

**Untersuchungen zu Möglichkeiten und Grenzen  
der Zitratmethode zur Geschlechtsbestimmung alter  
bodengelagerter menschlicher Knochen**

**Inaugural – Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der naturwissenschaftlichen Fachbereiche  
(Fachbereich Biologie, Chemie und Geowissenschaften)  
der Justus-Liebig-Universität Gießen**

**vorgelegt von  
Claudia Malek**

November 2001

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>EINLEITUNG</b>	<b>4</b>
	1.1 Allgemeines	4
	1.2 Geschlechtsbestimmung	4
	1.3 Zitratmethode	5
	1.4 Fragestellung	9
<b>2</b>	<b>MATERIAL UND METHODEN</b>	<b>12</b>
	2.1 Material	12
	2.1.1 Frisches Knochenmaterial von Obduktionen und Operationen	12
	2.1.2 Grödig	13
	2.1.3 Pleidelsheim	13
	2.1.4 Kamid el-Loz	14
	2.1.5 Trebur	14
	2.1.5.1 Hinkelstein	14
	2.1.5.2 Großgartach	14
	2.1.6 Münster-Gittrup	15
	2.2 Methode	15
	2.2.1 Methode 1 (HESS 1956)	15
	2.2.1.1 Chemikalienliste	15
	2.2.1.2 Theoretische Grundlage	15
	2.2.1.3 Reaktionsgleichung	16
	2.2.1.4 Darstellung des Farbkomplexes	16
	2.2.1.5 Vorgehensweise	17
	2.2.1.6 Kritische Betrachtung	19
	2.2.1.7 Auswertung	21
	2.2.2 Methode 2 (BOEHRINGER MANNHEIM 1994)	22
	2.2.2.1 Chemikalienliste	22
	2.2.2.2 Theoretische Grundlage	22
	2.2.2.3 Vorgehensweise	22
	2.2.2.4 Kritische Betrachtung	23
	2.2.2.5 Auswertung	24
<b>3</b>	<b>ERGEBNISSE</b>	<b>26</b>
	3.1 Vergleich zweier Zitratmethoden bei frischem Knochenmaterial	26
	3.2 Bestimmungssicherheit der Zitratmethode bei frischem Knochenmaterial	27
	3.3 Lokale Abhängigkeit der Zitratinlagerung	30
	3.4 Zusammenhang zwischen Lebensalter und Zitratgehalt	32
	3.5 Geschlechtsbestimmung einer kompletten Skelettserie	35
	3.6 Anwendbarkeit der Zitratmethode auf Leichenbrände	37
	3.7 Bestimmungssicherheit der Methode bei historischem Skelettmaterial	39
	3.8 Vergleich aller Untersuchungsgruppen	42

<b>4</b>	<b>DISKUSSION .....</b>	<b>46</b>
4.1	Vergleich zweier Zitratmethoden.....	46
4.2	Bestimmungssicherheit der Zitratmethode bei frischem Knochenmaterial.....	47
4.3	Lokale Abhängigkeit der Zitratinlagerung .....	47
4.4	Zusammenhang zwischen Lebensalter und Zitratgehalt .....	48
4.4.1	Infans I .....	48
4.4.2	Infans II .....	49
4.4.3	Juvenis .....	49
4.4.4	Adult.....	49
4.4.5	Matur.....	50
4.4.6	Senil .....	50
4.4.7	Gesamtbeurteilung.....	50
4.5	Geschlechtsbestimmung einer kompletten Skelettserie.....	51
4.6	Anwendbarkeit der Zitratmethode auf Leichenbrände.....	53
4.7	Bestimmungssicherheit der Methode bei historischem Skelettmaterial .....	53
4.7.1	Grödig .....	53
4.7.2	Pleidelsheim .....	54
4.7.3	Kamid el-Loz.....	54
4.7.4	Münster-Gittrup.....	55
4.7.5	Trebur-Hinkelstein .....	55
4.7.6	Trebur-Großgartach.....	55
4.7.7	Frisches Knochenmaterial aus Obduktionen und Operationen.....	55
4.7.8	Gesamtbeurteilung.....	55
4.8	Vergleich aller Untersuchungsgruppen.....	55
<b>5</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG .....</b>	<b>58</b>
<b>6</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS .....</b>	<b>61</b>

## 1 Einleitung

### 1.1 Allgemeines

Ein bedeutendes Quellenmaterial, das unmittelbar Aufschluß über den Menschen vergangener Zeiträume zu geben vermag, sind die körperlichen Überreste, welche die Zeiten überdauert haben. Diese Überreste, zumeist Skelette oder Leichenbrände, werden bei Ausgrabungen geborgen und im Anschluß daran von Anthropologen ausgewertet. Dadurch werden in erster Linie individuelle biologische Daten wie Alter, Geschlecht, Körperhöhe und besondere Merkmale erfaßt. Die Individualdaten einer abgegrenzten Population finden Verwendung in der demographischen Auswertung dieser Bevölkerungsgruppe. Ohne die Untersuchung der körperlichen Überreste sind fundamentale, sozialgeschichtliche Daten oftmals überhaupt nicht zu erhalten (HERRMANN & SPRANDEL 1987).

Diese osteologischen Untersuchungen werden durch einige Faktoren erschwert. Dies können sowohl taphonomische Faktoren (z.B. Bodenchemismen, Nagerfraß) wie auch spezielle Bestattungsriten (z.B. Brandbestattungen) sein.

### 1.2 Geschlechtsbestimmung

Mit der Geschlechtsdiagnose erhält man die, neben dem Individualalter, zweite grundlegende biologische Information über ein Individuum. Sie beruht in erster Linie auf einer Bewertung des Geschlechtsdimorphismus von Form- und Größenmerkmalen am Skelett. Der Ausprägungsgrad dieser Merkmale unterliegt einer Variabilität, die sowohl die beiden Geschlechter als auch räumlich und/oder zeitlich getrennte Populationen betrifft.

An fast jedem Knochen des Skelettes gibt es wohl mehr oder weniger gut geeignete Geschlechtsmarker, die in der entsprechenden Literatur vielfach beschrieben sind (HERRMANN et al. 1990, KROGMAN & ISÇAN 1986).

Bei der morphognostischen Geschlechtsdiagnose verschafft man sich zunächst einen Überblick über die Variabilität der geschlechtstypischen Merkmale innerhalb einer Skelettserie.

Ist der Geschlechtsunterschied morphognostischer Kriterien gering oder die Variabilität der geschlechtstypischen Merkmale, z.B. bei Einzelfunden, nicht bekannt, ist eine metrische Geschlechtsdiagnose angezeigt (SJØVOLD 1975, STEWART 1954).

An Kinderskeletten ist nach den bekannten Methoden am Skelett nur selten eine gesicherte Geschlechtsbestimmung möglich, da sich die geschlechtsbestimmenden Merkmale erst nach dem Erreichen der Geschlechtsreife ausbilden. An Zahnmaßen des bleibenden Gebisses eines Kindes von ca. 6-7 Jahren lassen sich indessen bereits Geschlechtsunterschiede erkennen (DITCH & ROSE 1972; LANGENSCHIEDT 1983; RÖSING 1983).

Prinzipiell gilt, daß die Geschlechtsdiagnose um so sicherer ist, je mehr Kriterien berücksichtigt werden. Die Angabe des Geschlechts wird demnach wie folgt klassifiziert:

- (3) : mit großer Wahrscheinlichkeit als ... bestimmt
- (2) : stärkere Tendenz ...
- (1) : schwache Tendenz ...
- (n.b.) : nicht bestimmbar
- w : weiblich
- m : männlich

Seit einigen Jahren werden biochemische Methoden zur Geschlechtsbestimmung eingesetzt, wie die PCR (**P**olymerase **C**hain **R**eaction) oder die Zitratmethode. Diese bieten die Möglichkeit, die Ergebnisse der morphologischen und metrischen Untersuchungen zu kontrollieren, aber auch Informationen aus schlecht erhaltenen und verwitterten Knochen zu erhalten, bei denen die vorher genannten Methoden versagen.

Die PCR-Methode ist als wirkliche Alternative allerdings nur für die Bearbeitung von Einzelindividuen denkbar, da sie nicht nur sehr aufwendig sondern auch kostenintensiv ist. Um die PCR durchführen zu können, muß DNA (Desoxyribonucleinsäure, Träger des genetischen Codes) aus dem Knochen- oder Zahnmaterial gewonnen werden. Als heikel erwies sich hierbei vor allem die Kontamination durch den Kontakt des Materials mit anderen Lebewesen während und nach der Ausgrabung (Bakterien, Tiere, Menschen). Dabei bleiben einzelne Zellen, Hautschüppchen oder ähnliches an ihm haften. Diese Zellen oder Zellreste aber enthalten ebenfalls DNA.

Diese junge, frische DNA läßt sich nun viel leichter gewinnen und weiter verarbeiten als die „alte“ DNA (auch als aDNA, ancient DNA, bezeichnet). Daher muß ein solcher Knochen oder Zahn zuerst mit UV-Strahlung behandelt werden (dies zerstört die sich auf der Oberfläche des Knochens befindende DNA). Danach wird das Skeletteil in einem Reinraum aufgesägt und eine Probe aus dem Inneren des Knochens oder des Zahnes entnommen, von der man ausgehen kann, daß sie zumindest nicht mit menschlicher DNA kontaminiert ist. Bei der anschließenden Gewinnung und Auftrennung der DNA werden die längeren Fragmente aus der Probe entfernt, da sie mit größerer Wahrscheinlichkeit von Bakterien stammen. Nur die dann verbleibenden kürzeren DNA-Fragmente werden amplifiziert, also vervielfältigt (HAGELBERG, SYKES & HEDGES 1989).

### 1.3 Zitratmethode

Voraussetzung zur Informationsgewinnung an Knochenmaterial ist die Kenntnis derjenigen Faktoren, die sich am Skelett manifestieren. „Biological reconstruction“ (HOWELLS 1960) oder „skeletal biology“ LENGYEL in BROTHWELL 1968) befassen sich mit den Ergebnissen solcher Untersuchungen an gerichtsmedizinischem Material. Man erkannte schon bald, daß die morphometrischen Methoden bei nur fragmentarisch vorhandenen Knochenresten nicht anzuwenden waren. Man suchte nach neuen Methoden, die auf einem Marker beruhen, der auch in kleinsten Knochenteilen vorhanden ist und chemische, histologische, serologische oder genetische Unterschiede aufzeigt.

Als erstes muß dazu die chemische (organische und anorganische) Zusammensetzung des Knochens geklärt werden. Man suchte speziell nach solchen Stoffen, die einen signifikanten Unterschied zwischen Männern und Frauen anzeigen. Dabei fand man heraus, daß der Gehalt an Zitat (Kalziumsalz der Zitronensäure) in den Wirbelkörpern der Frauen im Alter zwischen dem Beginn der geschlechtlichen Reife und dem Klimakterium signifikant höher ist als bei Männer gleichen Alters. Bei Anwendung dieser Ergebnisse auf historisches und prähistorisches Knochenmaterial zeigte sich schon bald, daß man die Zitatmethode immer nur auf *eine* Population anwenden kann (LENGYEL 1968; vgl. Abb. 1).

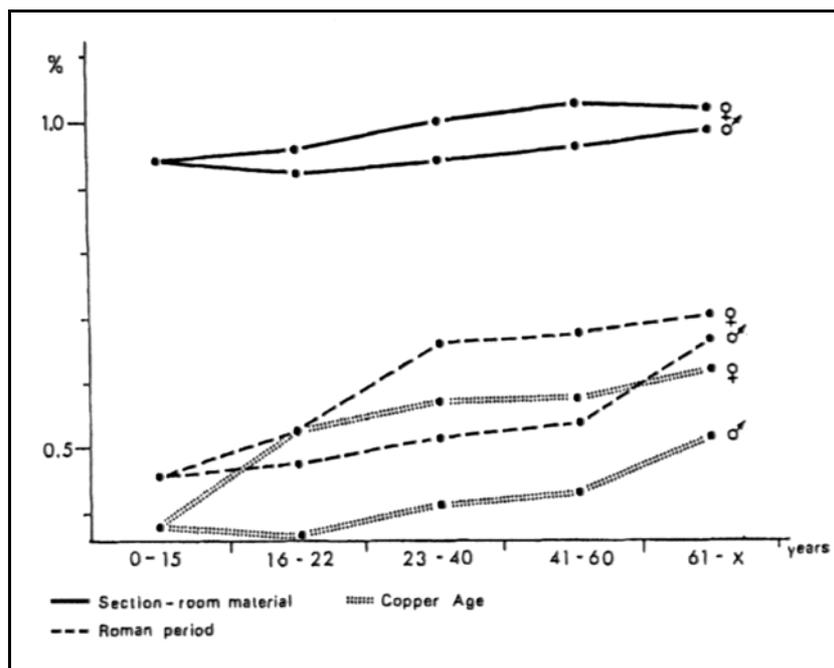


Abbildung 1: Veränderungen des Zitatgehaltes in Abhängigkeit von Geschlecht, Lebensalter, Herkunft und Liegezeit (aus LENGYEL, in BROTHWELL 1968)

Vermutet wird, daß diese Tatsache auf dem Abbau des Zitrates im Knochen während seiner Lagerung im Boden beruht. So ist bekannt, daß sich die Gesamtsumme der organischen und anorganischen Stoffe, also auch das Zitat, vermindert, und zwar in linearem Verhältnis mit der seit der Bestattung vergangenen Zeit. Sie hängt außerdem von den Bodenverhältnissen und den klimatischen Verhältnissen ab (OAKLEY 1956; COOK 1959).

Ein einzelnes Skelett, dessen historisches und biologisches Alter nicht bekannt ist, kann nicht mit anderen Skeletten verglichen werden, so daß sein Geschlecht mit dieser Methode nicht bestimmt werden kann.

Schon seit der ersten Hälfte dieses Jahrhunderts ist bekannt, daß Ziträt im Körper eines Menschen vorkommt (SHERMAN, MENDEL & SMITH 1936). Auch ist die Rolle des Zitrates im oxidativen Abbauzyklus der Kohlenhydrate, Fette und Albumine, Ziträt-, Tricarbonsäure-, C<sub>3</sub>- oder Krebszyklus genannt, nachgewiesen (KREBS & JOHNSON 1943). Ungefähr 70% des gesamten Ziträtgehaltes befinden sich im Knochenmaterial eines Menschen (DICKENS 1941). Ziträt und Kalzium, das ebenfalls im Knochen gefunden werden konnte, stehen in engem Zusammenhang, indem sie den Komplex eines Trikalziumdizitrat-Moleküles bilden (HENNING & THEOPOLD 1951). Während im kortikalen Knochengewebe der Ziträtgehalt direkt von der Konzentration des Kalziums abhängt (0,7-1,3 Ziträtmoleküle kommen auf 100 Kalziumatome), ist der Ziträtgehalt der Spongiosa unabhängiger von der Kalziumkonzentration und im allgemeinen niedriger (KUYPER 1945).

Im Knochen ist das Ziträt ständigen Auf- und Abbauvorgängen unterworfen. Diese quantitativen Schwankungen des Zitrates beruhen auf der Abgabe mit dem Urin. Je mehr Ziträt mit dem Urin ausgeschieden wird, desto höher ist der resultierende Ziträtgehalt im Knochen (LENGYEL 1970; LENGYEL & FARKAS 1972).

Östrogen führt zur einer erhöhten Ausscheidung des Zitrates mit dem Urin nach einer Menstruation (SHORR, BERNHEIM & TAUSSKY 1942; vgl. Abb. 2). Androgene Hormone verringern dagegen die Ausscheidung des Zitrates.

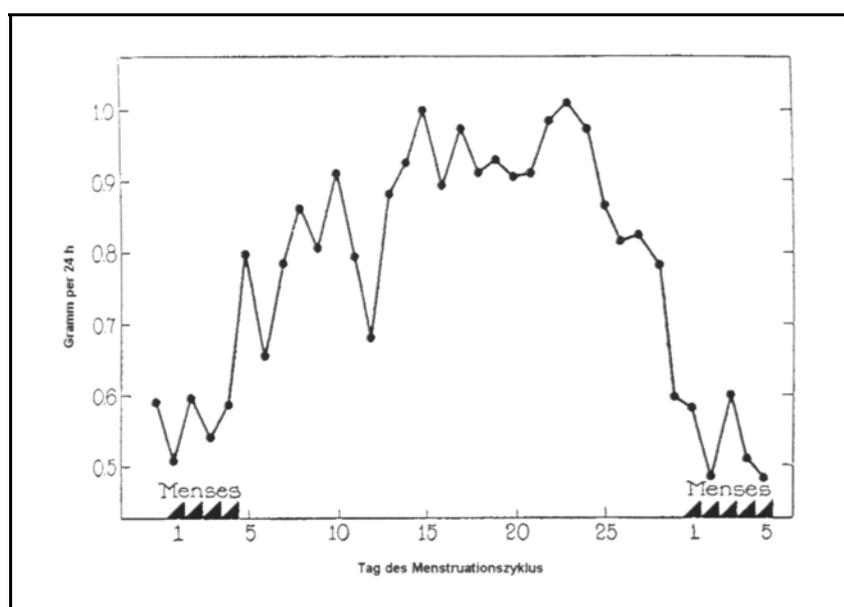


Abbildung 2: Exkretion der Zitronensäure mit dem Urin in Abhängigkeit vom Tag des Menstruationszyklus (aus SHORR et al. 1942)

Ziträt spielt noch eine weitere wichtige Rolle im Körper des Menschen. Es bildet einen wasserlöslichen Komplex mit Kalzium und ist auf diese Weise in den Kalziummetabolismus eingebunden (RIGGS et al. 1969).

In Körperflüssigkeiten findet man Kalzium zum Teil in ionisierter Form (als  $\text{Ca}^{2+}$ ), meistens aber als dissoziierten Kalziumzitat-Komplex. Wenn die Zitratsmenge im Organismus absinkt, steigt der Zitratsgehalt im Blutplasma und in der Interstitiellen Flüssigkeit. Der Zitratsüberschuß der beiden Körperflüssigkeiten wird von der Interstitiellen Flüssigkeit in das Knochengewebe als größtes Zitratsdepot hinein abgebaut, Wenn der Zitratsgehalt des Körpers ansteigt, führt dies zu einer verringerten Zitratablagerung in den Knochen (LENGYEL 1968, 1969; NEMESKÉRY & LENGYEL 1963; LENGYEL & NEMESKÉRY 1963, 1970).

Dies führt dazu, daß der Zitratsgehalt in den Knochen eines Mannes niedriger ist als der in den Knochen einer Frau (THUNBERG 1947).

Bei rezentem Sektionsmaterial findet man im Wirbelkörper eines Mannes einen Zitratsgehalt von durchschnittlich 0,71% (Gewichtsprozent) und im Wirbelkörper einer Frau einen Zitratsgehalt von durchschnittlich 1,11% (Gewichtsprozent). Historisches Material liefert die gleichen Ergebnisse (LENGYEL 1964, 1968, 1969, 1970; LENGYEL & FARKAS 1972; LENGYEL & NEMESKÉRY 1970; NEMESKÉRY & LENGYEL 1963).

Die gewonnenen Daten aus frischem Knochenmaterial der weiblichen Wirbelkörper in den verschiedenen Altersgruppen setzte LENGYEL (1972) jeweils gleich 100%, die entsprechenden Prozentsätze der männlichen Wirbelkörper waren geringer. Er fand heraus, daß der prozentuale Zitratsgehalt der Wirbelkörper eines Mannes im Alter von

0- 5 Jahre	um	4,94%
6-10 Jahre	um	3,40%
11-15 Jahre	um	30,54%
16-20 Jahre	um	28,32%
21-30 Jahre	um	33,30%
31-40 Jahre	um	30,92%
41-50 Jahre	um	30,50%
51-60 Jahre	um	20,46%
61-70 Jahre	um	17,19%
71- X Jahre	um	4,32%

geringer ist als bei Frauen der gleichen Altersgruppe. Daraus folgt, daß man bei Knochenmaterial keine Aussage über das Geschlecht machen kann mit Hilfe des Zitratsgehaltes, wenn das Sterbealter vor der Pubertät oder oberhalb von 60 Jahren liegt. Zwischen diesen Altersgrenzen (15-60 Jahre) ist der Zitratsgehalt bei Frauen signifikant höher als bei Männern (vgl. Abb. 3).

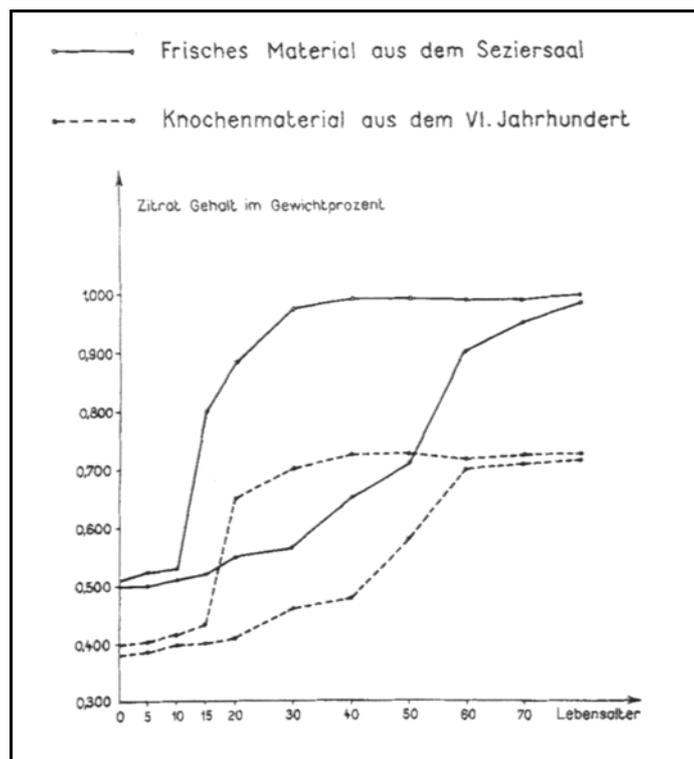


Abbildung 3: Veränderungen des Zitratgehaltes in Abhängigkeit von Geschlecht, Lebensalter und Liegezeit (aus LENGYEL 1972)

Untersuchungen an historischem Material aus der frühen Bronzezeit zeigten, daß der prozentuale Zitratgehalt männlicher Knochen um 0,315 Gewichts% (57,43%) und der weiblicher Knochen um 0,426 Gewichts% (56,31%) niedriger liegt als der Zitratgehalt aus frischem, anatomischem Material aus dem Seziersaal. Der Grund dafür ist die Dekomposition des Knochens (LENGYEL & FARKAS 1972). So wird das Zitrat, wie alle organischen und anorganischen Knochenmaterialien im Laufe der Liegezeit abgebaut. Die Sicherheit der Methode liegt bei ca. 90% (DENNISON 1979).

Anstatt Wirbelkörperspongiosa lassen sich sowohl Spongiosa (KISZELY 1974) als auch Kompakta von Langknochen anderer Skeletteile verwenden (DENNISON 1979).

## 1.4 Fragestellung

Für die quantitative Bestimmung der Zitratkonzentration wurden seit der Mitte des letzten Jahrhunderts mehrere Methoden entwickelt und beschrieben.

Bei der Methode nach HESS (1956) wird Zitrat durch ein geeignetes Oxidationsmittel in Pentabromazeton überführt, welches quantitativ durch Photometrie bestimmt wird (siehe auch Kapitel 2.2.1 Methode 1 nach HESS 1956).

Bei der Polarographie nutzt man die Erscheinung aus, daß zum Zersetzen eines Elektrolyten eine Mindestspannung notwendig ist; unterhalb dieser Spannung fließt nur ein kleiner Reststrom. Erhöht man die Spannung aber, so steigt der Strom auf einen Sättigungswert an, der u.a. von der Konzentration des gelösten Stoffes abhängig ist. Eine Methode zur Anwendung der Polarographie lieferten BREZINA & ZUMAN (1956).

Das 1,4,6-tributylester der Zitronensäure wird bei der Gaschromatographie quantitativ bestimmt. Das Prinzip ist die Trennung von gasförmigen oder flüssigen Substanzen, die restlos verdampft werden. KISZELY (1974) beschreibt die spezielle Anwendung der Gaschromatographie auf die Zitratbestimmung aus Knochenmaterial.

Bei der enzymatischen Methode von GRUBER & MÖLLERING (1966) wird Zitrat enzymatisch abgebaut, wobei ein zweiter Stoff quantitativ zur Zitratkonzentration in seinen oxidierten Zustand überführt wird. Die Abnahme dieses zweiten Stoffes wird photometrisch bestimmt. Die Anwendung zur Zitratbestimmung in Lebensmitteln, Blut und Urin liefert BOEHRINGER MANNHEIM (1994). Sie wurde bisher noch nicht zur Zitratbestimmung an Knochenmaterial eingesetzt.

Sowohl die Polarographie, als auch die Gaschromatographie sind sehr aufwendige, kostenintensive Methoden, die das Vorhandensein teurer Geräte voraussetzt, die für diese Arbeit leider nicht zur Verfügung standen. Daher wurde auf die Anwendung dieser beiden Methoden verzichtet.

Im Laufe der letzten fünfzig Jahre wurde hauptsächlich die Methode nach HESS (1956) angewandt, obwohl sie nicht nur technisch sondern auch zeitlich sehr aufwendig ist. Ihre Einsatzmöglichkeit zur Geschlechtsbestimmung menschlicher Skelettreste wird allgemein nicht bestritten, doch kann es bei dieser Methode zu vielen Fehlern kommen (vgl. Kapitel 2.2.1.6 Kritische Betrachtung). Aus diesem Grunde soll in dieser Arbeit zum ersten Mal auch die enzymatische Methode zur Zitratbestimmung nach BOEHRINGER MANNHEIM (1994) auf ihre Anwendbarkeit auf Knochenmaterial getestet werden und die Ergebnisse mit denen der Methode nach HESS (1956) verglichen werden. Diese Methode besticht im allgemeinen durch ihre Einfachheit und Genauigkeit und wird daher in den Laboratorien der medizinischen Diagnostik zur Bestimmung des Zitratgehaltes in Blut- und Urinproben verwendet.

Unabhängig von der verwendeten Methode gilt, daß, im Gegensatz zur aDNA-Analyse, keine Einzelindividuen bestimmt werden können. Nur wenn ganze Skelettserien vorliegen, lassen sich die einzelnen Individuen mit Hilfe der quantitativen Zitratbestimmung einem Geschlecht zuordnen. Dies resultiert aus der Tatsache, daß der Zitratgehalt in Abhängigkeit von Liegemilieu und –dauer abnimmt. Daher ist das Geschlecht eines Skelettindividuums nur im Vergleich mit der gesamten Gruppe zu bestimmen.

Anzumerken bleibt, daß man mit der Zitratmethode immer nur den hormonellen Zustand des Organismus zum Zeitpunkt des Todes direkt ableiten kann und nicht das Geschlecht des Toten.

In dieser Arbeit soll versucht werden, Fragen bezüglich der Methodik und Aussagefähigkeit der Zitratbestimmung zu beantworten:

1. Gibt es Unterschiede in der quantitativen Erfassung der Zitratkonzentration bei der Anwendung von zwei verschiedenen Testmethoden (Methode nach HESS 1956 und enzymatische Methode nach BOEHRINGER MANNHEIM 1994)?
2. Wie groß ist die Bestimmungssicherheit der Zitratmethode
  - a) nach HESS (1956)?
  - b) nach BOEHRINGER MANNHEIM (1994)?
3. Wird in verschiedene Skeletteile des gleichen Körpers unterschiedlich viel Zitrat eingelagert? Kann man also, wenn man die Individuen einer Fundgruppe geschlechtsbestimmen möchte, den Zitratgehalt zum Beispiel des Wirbelkörpers eines Individuums mit dem Zitratgehalt zum Beispiel des Oberschenkelknochens eines anderen Individuums vergleichen?

4. Inwieweit läßt sich die Zitratbestimmung bei männlichen und weiblichen Skelettindividuen verschiedener Altersstufen anwenden?
5. Lassen sich mit Hilfe der Zitratmethode auch Skelettindividuen geschlechtsbestimmen, die mit herkömmlichen morphometrischen Methoden nicht oder nur mit Einschränkungen zu bestimmen waren?
6. Kann man die Zitratmethode auch bei Leichenbränden anwenden?
7. Mit welcher prozentualen Sicherheit lassen sich Geschlechtsdiagnosen an bodengelagertem Skelettmaterial durchführen?
8. Wie unterscheiden sich die Zitratkonzentrationen von Skelettproben aus unterschiedlichen Zeiten?

## 2 Material und Methoden

### 2.1 Material

Um die Bestimmungssicherheit der Zitratmethode ermitteln zu können, muß man das tatsächliche Geschlecht des Individuums, von dem die Knochenprobe stammt, kennen. Nur dann kann man die gewonnenen Ergebnisse auf Ihre Genauigkeit hin untersuchen. Zu diesem Zweck wird auch Skelettmaterial verwendet, das von Obduktionen, bzw. Operationen stammt (vgl. Kapitel 2.1.1).

Bei dem bodengelagerten Skelettmaterial wurden nur Individuen berücksichtigt, die mit anderen Methoden mit großer Wahrscheinlichkeit als männlich bzw. weiblich (m3, w3) bestimmt waren. Das Alter der Individuen (Ausnahme: Skelettserie Pleidelsheim) liegt zwischen Juvenis und Frühmatur. Die Skelettserie Kamid el-Loz wurde darüber hinaus komplett bestimmt.

Tabelle 1 zeigt die im folgenden verwendete Einteilung in Altersklassen (in Anlehnung an MARTIN 1928):

Alter in Jahren	Altersklasse	Definition
0-6	Infans I	bis zum Durchbruch der ersten Molaren
7-12	Infans II	bis zum Durchbruch der zweiten Molaren
13-20	Juvenis	Schluß der Sphenobasilarfuge der Schädelbasis
21-40	Adultus	kleine Stellen mit Nahtobliteration am Schädel
41-60	Maturus	kein vollständiges Verstreifen der Schädelnähte
Älter als 60	Senilis	Schädelnähte völlig geschlossen

Tabelle 1: Alterseinteilung (nach MARTIN 1928)

Eine weitere Unterteilung in Frühadult (21-30 Jahre) sowie Spätadult (31-40 Jahre) und Frühmatur (41-50 Jahre) sowie Spätmatur (51-60 Jahre) ist möglich.

Mit Ausnahme der Serie Grödig wurden zum besseren Vergleich der Skelettserien untereinander immer Lumbalwirbel verwendet.

Die Knochenproben wurden alle mit einem Abkürzungsschlüssel versehen, aus dem das Geschlecht nicht hervorgeht.

#### 2.1.1 Frisches Knochenmaterial von Obduktionen und Operationen

Für eine korrekte Beurteilung der Bestimmungssicherheit der Zitratmethode ist es wichtig, das tatsächliche Geschlecht des Individuums zu kennen. Das benötigte Material zu bekommen, erwies sich als unerwartet schwierig. Die nächstliegende Anlaufstation, das Zentrum für Pathologie des Universitätsklinikums Gießen, stellte bereitwillig Knochenmaterial aus genehmigten Obduktionen zur Verfügung. Bald stellte sich jedoch heraus, daß von ca. 200 genehmigten Obduktionen pro Jahr weit mehr als die Hälfte (64%) an Toten im Alter von über 60 Jahren vorgenommen wurden. Es entwickelte sich also sehr schnell ein Bedarf an Knochenmaterial von Personen im Alter unter 60 Jahren. Insgesamt wurden in dieser Arbeit 7 Knochenproben aus der Pathologie des Universitätsklinikums Gießen untersucht.

Eine weitere Materialquelle war das Institut für Rechtsmedizin des Universitätsklinikums Gießen. Hier konnten 14 Knochenproben requiriert werden.

Gleichzeitig bot sich über private Kontakte die Möglichkeit, kleine Mengen frisches Knochenmaterial zu erhalten, die bei Bandscheibenoperationen aus der Lendenwirbelsäule ausgestanzt werden. Das Krankenhaus Oldenburg war bereit, diese Knochenfragmente einzeln verpackt, mit Alter und Geschlecht des Patienten versehen, gut gekühlt aufzubewahren, bis ein befreundeter Arzt diese einmal pro Woche mit nach Gießen brachte. Auf diesem Wege gelang es innerhalb von 4 Wochen, 33 Knochenproben verschiedener Altersgruppen für die Zitratanalyse zu erhalten.

Insgesamt standen also 54 Knochenproben von Obduktionen und Operationen zur Verfügung. Davon stammen 4 aus der Altersgruppe Juvenis (7,4%), 8 aus der Altersgruppe Frühadult (14,8%), 12 aus der Altersgruppe Spätadult (22,2%), 10 aus der Altersgruppe Frühmatur (18,5%), 8 aus der Altersgruppe Spätmatur (14,8%) und 12 aus der Altersgruppe Senilis (22,2%). In jeder Altersgruppe stammt das Knochenmaterial zur Hälfte von Männern, zur anderen Hälfte von Frauen.

### **2.1.2 Grödig**

Die Skelettserie Grödig bei Salzburg wurde 1986 vom Salzburger Museum Carolino Augusteum ausgegraben. Die Beigaben wurden in das 6. und 7. Jh. n. Chr. datiert und lassen auf eine romanische Bevölkerung schließen (MOOSLEITNER 1992, briefliche Mitteilung). Die Alters- und Geschlechtsbestimmungen wurden von Kunter (KUNTER i. Dr.) durchgeführt.

86 Individuen standen der Untersuchung zur Verfügung. Bei 4 männlichen und 10 weiblichen Skelettindividuen war ein Sterbealter zwischen 18 und 50 Jahren diagnostiziert worden. Insgesamt wurden 14 Individuen untersucht (16,3% der Gesamtserie).

### **2.1.3 Pleidelsheim**

Die Skelettserie Pleidelsheim stammt aus dem 5.-7. Jh. n. Chr. Die Ausgrabung des Gräberfeldes wurde 1989 durch das Landesdenkmalamt Baden-Württemberg durchgeführt (CZARNETZKI et al. Nach CHRISTLEIN 1982). Die Alters- und Geschlechtsbestimmungen wurden von Kunter (KUNTER i. Dr.) durchgeführt.

128 Individuen standen der Untersuchung zur Verfügung. Von den Skelettindividuen, deren Alter zwischen 20 und 50 Jahren bestimmt war, konnten 5 männliche (m3) und 6 weibliche (w3) für die Untersuchung verwendet werden. Von den Skelettindividuen, deren Alter zwischen 40 und 80 Jahren bestimmt war, konnten 5 männliche (m3) und 10 weibliche (w3) für die Untersuchung verwendet werden. Insgesamt 22 Kinder und Jugendliche, davon 11 Infans I, 7 Infans II und 4 Juvenis wurden weiterhin mit einbezogen, wobei nur 2 als w1 bestimmt werden konnten. In Ermangelung von Lumbalwirbeln mußte bei den Kindern und Jugendlichen auf Extremitätenkompakta zurückgegriffen werden. Somit konnten insgesamt 48 Individuen untersucht werden (37,5% der Gesamtserie).

### **2.1.4 Kamid el-Loz**

Die Skelettindividuen des Gräberfeldes von Kamid el-Loz (auf dem Gebiet des heutigen Libanon) stammen aus der Eisenzeit, also aus dem 5./4. Jahrhundert v. Chr. Das Institut für Vor- und Frühgeschichte und Vorderasiatische Archäologie der Universität des Saarlandes begann 1963 mit der Ausgrabung. Eine ausführliche anthropologische Bearbeitung der Skelettserie erfolgte 1977 (KUNTER 1977).

Insgesamt 11 Skelette waren als Infans I bzw. II bestimmt. 39 juvenile und erwachsene Individuen konnten untersucht werden. Davon waren 15 mit m3, 3 mit m2, 13 mit w3, 4 mit w2 und 1 mit w1 bestimmt. Bei 3 juvenilen Skelettindividuen war das Geschlecht mit morphologisch-morphometrischen Methoden nicht zu bestimmen.

Insgesamt konnten also Knochenproben von 50 Individuen in die Untersuchung einfließen (58,1% der Gesamtserie).

### **2.1.5 Trebur**

Die Skelettserie von Trebur aus dem Kreis Groß-Gerau gehört zu einem Gräberfeld des Mittelneolithikums. Sie repräsentiert eine ackerbaureisende Bevölkerung der Kulturgruppen Hinkelstein und Großgartach (etwa 4900-4800 v. Chr.), wobei die Großgartacher den Hinkelsteinern zeitlich folgen. Mit der endgültigen Ausgrabung wurde 1988 unter der Leitung der Archäologischen Denkmalspflege der Außenstelle Darmstadt begonnen (GÖLDNER 1990).

Aus den 137 Gräbern wurden insgesamt 129 Individuen geborgen (78 gehörten zur Gruppe Hinkelstein, 60,5%; 51 zur Gruppe Großgartach, 39,5%). Hinsichtlich der Morphologie der Individuen konnte kein Unterschied zwischen den beiden Kulturkreisen gefunden werden (JACOBHAGEN & KUNTER 1991).

#### **2.1.5.1 Hinkelstein**

7 Skelettindividuen der Serie, die die Bedingungen, als m3 bestimmt und im Alter zwischen 20 und 52 Jahren zu sein, erfüllten, waren Lumbalwirbel vorhanden. Weiterhin konnten 14 als w3 im Alter zwischen 20 und 50 bestimmte Skelette in die Untersuchung einfließen. Insgesamt standen für die Untersuchung 21 Individuen zur Verfügung (26,9% der Gesamtserie).

#### **2.1.5.2 Großgartach**

4 Skelettindividuen waren als m3 im Alter von 18 bis 48 Jahren bestimmt und enthielten Reste der Lendenwirbelsäule. 9 als w3 im Alter von 20-53 Jahren bestimmte Skelette besaßen Lumbalwirbel und konnten bei der Untersuchung berücksichtigt werden. Insgesamt konnten also 13 Individuen verwendet werden (25,5% der Gesamtserie).

So konnten von den insgesamt 129 Skelettindividuen der beiden Kulturgruppen Hinkelstein und Großgartach 34 untersucht werden (26,4%).

### 2.1.6 Münster-Gittrup

Die Serie von Münster-Gittrup umfaßt 291 Leichenbrände aus der Urnenfelderzeit (ca. 1200-750 v. Chr.; MECKE 1995, briefliche Mitteilung). Die Alters- und Geschlechtsbestimmungen wurden von Kunter (KUNTER i. Dr.) durchgeführt.

17 Skelettindividuen waren als m3 im Alter zwischen 20 und 50 Jahren bestimmt worden (5,8%), von diesen konnten 15 verwendet werden (5,2%). 10 Skelettindividuen waren als w3 im Alter zwischen 18 und 50 Jahren bestimmt worden (3,4%). Es konnten somit 25 Proben genommen werden (8,6%).

Insgesamt wurden bei den Untersuchungen zu dieser Arbeit 225 verschiedene Knochenproben berücksichtigt.

## 2.2 Methode

### 2.2.1 Methode 1 (HESS 1956)

#### 2.2.1.1 Chemikalienliste

- 1n HCl (1 normale Salzsäure)
  - 27n H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (27 normale Schwefelsäure): 750ml ccH<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (konzentrierte) mit destilliertem Wasser (H<sub>2</sub>O<sub>dest.</sub>) auf 1l verdünnen
  - 17,6% (w/v) FeSO<sub>4</sub> (Eisensulfat): 8,8g FeSO<sub>4</sub> \* 7 H<sub>2</sub>O in 30ml H<sub>2</sub>O<sub>dest.</sub> lösen, 2ml 27n H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> hinzugeben und mit destilliertem Wasser auf 50ml auffüllen
  - 40% KOH (Kaliumhydroxidlösung, Kalilauge): 40g KOH in 100ml H<sub>2</sub>O<sub>dest.</sub> lösen
  - n-Heptan (Siedepunkt: 98-98,5°C)
  - Pyridin p.a. (per analysis)
  - Wasserfreies Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> p.a. (Natriumsulfat)
  - BBV (Bromid-Bromat-Vanadat): 19,84g KBr (Kaliumbromid), 4,92g NaBrO<sub>3</sub> (Natriumbromat) und 12,00g NH<sub>4</sub>VO<sub>3</sub> (Ammoniumvanadat) in 1l H<sub>2</sub>O<sub>dest.</sub> lösen
  - Trikalziumdizitrat
- Alle Chemikalien lieferte die Firma Merck.

#### 2.2.1.2 Theoretische Grundlage

Die hier verwendete Methode ist die von HESS (1956) abgewandelte Methode TAUSSKY's (1947; TAUSSKY & SHORR 1947).

Um den Zitratgehalt feststellen zu können, muß die Zitronensäure aus dem Knochenmaterial gewonnen, in einen farbigen Komplex überführt und photometrisch bestimmt werden.

Der Zitratgehalt wird aus unbehandeltem, pulverisiertem Knochen bestimmt. Das Knochenpulver wird mit Salzsäure in Lösung gebracht. In stark schwefelsaurer Lösung oxidiert das BBV-Reagenz (**Bromid-Bromat-Vanadat**), genauer gesagt die Vanadinsäure, das Zitrat zum Pentabromazeton, ein trihalogenisiertes Hydrocarbon (vgl. Abb. 4). Das Vanadat wird mit Eisensulfat entfernt und das Pentabromazeton mit Heptan aus dem sonstigen Knochenmaterial extrahiert. Es wird von Wasser befreit, indem man einerseits die Wasserphase entfernt, andererseits wasserfreies Natriumsulfat hinzugibt. Im alkalischen Medium reagiert das Pentabromazeton mit Pyridin.

Dabei entsteht ein rot-rosa Stoff (FUJIWARA 1916), dessen Intensität, durch die Zitratkonzentration bedingt, mit einem Photometer bestimmt werden kann. Dabei wird die Extinktion des Stoffes (die Intensität der Färbung) gemessen (TAUSSKY & SHORR 1947).

### 2.2.1.3 Reaktionsgleichung

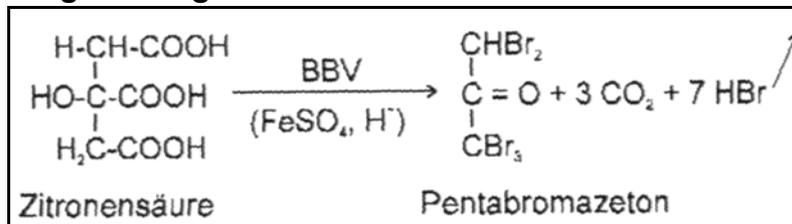


Abbildung 4: Darstellung des Pentabromazetons (TAUSSKY & SHORR 1947; HESS & WHITE 1956)

Dieser Schritt muß unbedingt unter einem Abzug durchgeführt werden, da der entweichende Bromwasserstoff stark ätzend auf Haut und Atmungsorgane wirkt.

Die Vanadinsäure im BBV-Reagenz wirkt als Oxidationsmittel, sie wird durch Eisensulfat ( $\text{FeSO}_4$ ) wieder reduziert und ist daher als Katalysator zu betrachten, sie setzt die Aktivierungsenergie herab (vgl. MORTIMER 1987).

### 2.2.1.4 Darstellung des Farbkomplexes

Das Pentabromazon befindet sich in der wässrigen Phase. Durch die Zugabe einer organischen Phase in Form des Heptans wird das Pentabromazon in die organische Phase überführt. Grund hierfür ist das Lösungsgleichgewicht. Lösungsgleichgewicht bedeutet, daß das Verhältnis der Konzentrationen eines Stoffes, gemäß des Nernst'schen Verteilungssatzes, in zwei sich berührenden, nicht mischbaren flüssigen Phasen im Gleichgewicht konstant ist. In diesem Fall liegt das Lösungsgleichgewicht sehr weit auf der Seite des Heptans. Der Grund dafür ist die sehr viel bessere Löslichkeit des Pentabromazetons in Heptan als in der wässrigen Phase. Daher wird das Pentabromazon in die organische Heptanphase überführt.

Entsprechendes passiert bei der Zugabe von Pyridin. Wieder haben wir zwei nicht mischbare flüssige Phasen (die Heptan- und die Pyridinphase), die diesmal aber beide organisch sind. Wieder liegt das Lösungsgleichgewicht sehr weit auf der Seite des Pyridins.

Der Grund für die Komplexbildung des Pentabromazetons mit dem Pyridin ist zum einen die bessere Löslichkeit des Pentabromazetons im Pyridin, zum anderen elektrostatische Wechselwirkungen mit dem freien Elektronenpaar des Stickstoffatoms (N) im Pyridin. Hierbei dürften auch Mesomerieeffekte der  $\pi$ -Elektronen des Aromaten mit dem freien Elektronenpaar am Stickstoffatom eine zusätzliche Rolle spielen. Hierdurch entstehen positive Partialladungen am Ring, die ihrerseits Wechselbeziehungen mit den beiden freien Elektronenpaaren am doppelgebundenen Sauerstoff des Pentabromazetons aufnehmen können. Der genaue Vorgang ist nicht bekannt. Reaktionsergebnis ist ein rosa Farbderivat.

Pyridin besitzt wie Benzol sechs delokalisierte  $\pi$ -Elektronen und läßt sich durch die in Abbildung 5 dargestellten Grenzformeln beschreiben (VOLLHARDT 1990).

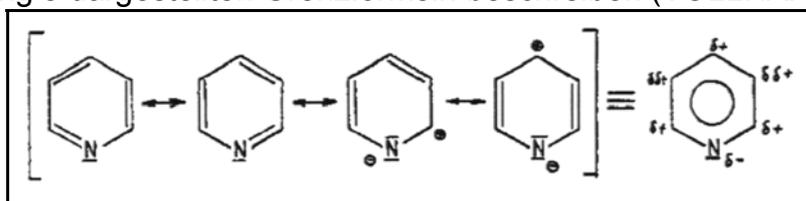


Abbildung 5: Grenzformeln des Pyridin (VOLLHARDT 1990)

Abbildung 6 stellt die Polarisierung des Pentabromazetons mit Hilfe von Valenzkeilen dar, die eine größere Elektronendichte am elektronegativeren Atom symbolisieren.

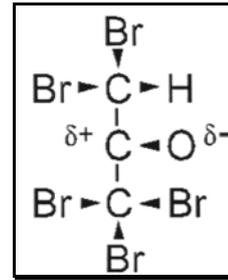


Abbildung 6: Polarisierung des Pentabromazetons

### 2.2.1.5 Vorgehensweise

- Knochenprobe dem Skelett entnehmen, gründlich säubern und bis zur Gewichtskonstanz trocknen
- Knochenprobe fein zermörsern, pulverisieren
- Zu 50mg dieser Probe 10ml Salzsäure hinzufügen und das Ganze ca. 10min in kochendem Wasser stehen lassen
- Wenn sich das Pulver aufgelöst hat, abkühlen lassen und auf 100ml mit destilliertem Wasser auffüllen
- 4ml dieser Flüssigkeit werden in ein 25ml Testgefäß aus Glas gefüllt und 4ml der 27n Schwefelsäure zugegeben (vgl. Abb. 7)
- Nachdem die Lösung auf Raumtemperatur abgekühlt ist, werden 4ml des BBV-Reagenz dazugegeben
- Die nun orange gefärbte Flüssigkeit wird im Vortexer geschüttelt und für mindestens 40min unter dem Abzug stehengelassen, da das überschüssige Brom in braunen Dämpfen entweicht (vgl. Abb. 8 und 9)
- Während dieser Zeit wird das Eisensulfat vorbereitet
- Nach 40 Minuten unter dem Abzug werden 2ml des Eisensulfates hinzugegeben, das Testgefäß im Vortexer geschüttelt und dann für mindestens 10min stehen gelassen (vgl. Abb. 10)
- Danach werden 6ml Heptan zu dieser nun grünen Flüssigkeit hinzugegeben und das Ganze für mindestens 1min im Vortexer gemischt (vgl. Abb. 11)
- Dann kann die untere tief-grüne Phase von der oberen durchsichtigen und klaren Phase mit einer Pasteurpipette entfernt werden (vgl. Abb. 12)
- Zu der klaren Heptanphase, die das Pentabromazeton enthält, werden nun 0,1g wasserfreies Natriumsulfat gegeben, geschüttelt und von dieser nun getrockneten Heptanphase 5ml in ein neues trockenes und sauberes Testgefäß überführt. In diesem Glasgefäß, das sich mit einem Glasstopfen verschließen lassen muß, befinden sich schon 6ml Pyridin und 3ml der 40% Kaliumhydroxid-Lösung
- Das Gefäß wird mit seinem Inhalt gründlich im Vortexer geschüttelt und mit dem Glasstopfen verschlossen. Drei Phasen, die von klar bis trübe variieren, werden sichtbar (vgl. Abb. 13)
- Das Testgefäß wird für 4 Minuten in ein 80°C heißes Wasserbad gestellt, dabei färbt sich die mittlere Phase rot-rosa (vgl. Abb. 14)

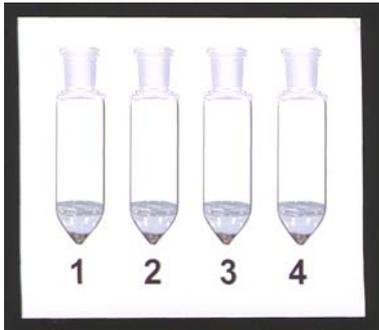


Abbildung 7: Zustand vor der BBV-Zugabe

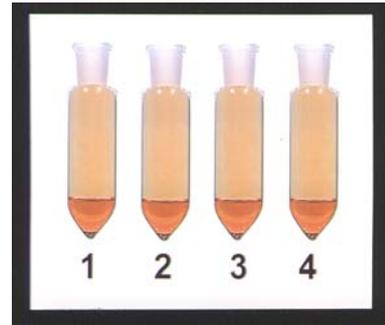


Abbildung 8: Zustand beim Entweichen der Bromdämpfe

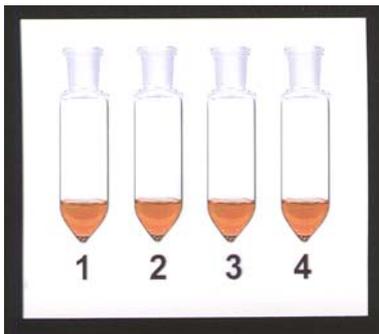


Abbildung 9: Zustand nach 40 minütiger Wartezeit

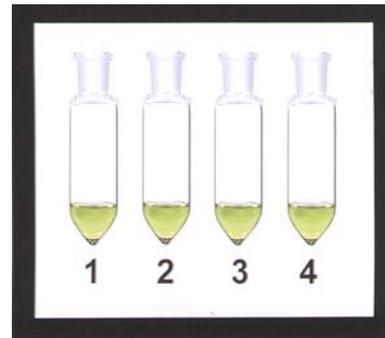


Abbildung 10: Zustand nach der Zugabe des Eisensulfates

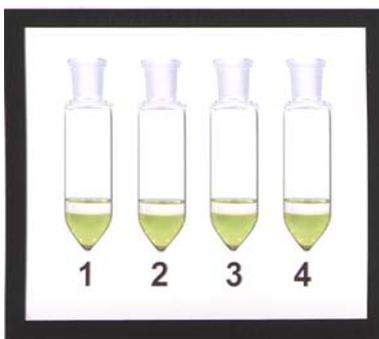


Abbildung 11: Zustand nach der Zugabe des Heptan

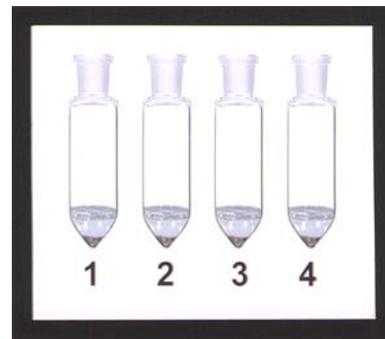


Abbildung 12: Zustand nach der Entfernung der grünen Phase

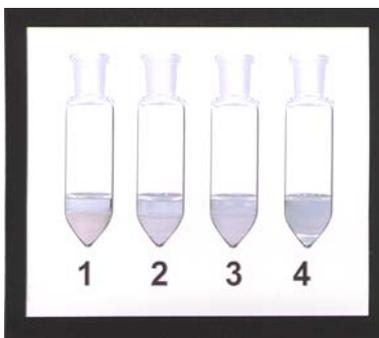


Abbildung 13: Zustand vor dem Erhitzen im Wasserbad

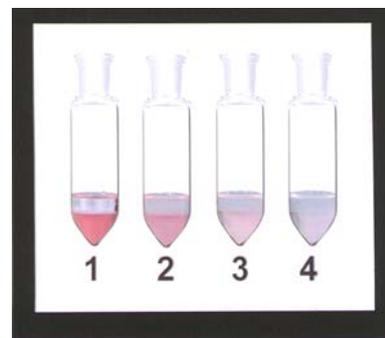


Abbildung 14: Zustand vor der Zentrifugation

- Diese Phase und die darüberliegende werden nach dem Abkühlen in einem Eisbad mit einer Pasteurpipette in ein verschließbares Zentrifugenröhrchen überführt und mit 2.500rpm 10 Minuten lang in Kälte zentrifugiert (Abtrennung von Rest-Heptan und kolloidalen Teilchen). Die Extinktion wird bei 370nm abgelesen
- Wie auf Abbildung 14 zu erkennen, zeigen unterschiedliche Zitratkonzentrationen verschieden starke Färbungen
- Die eingesetzte Zitratmenge beträgt für: Testgefäß 1: 20µg/ml  
 Testgefäß 2: 10µg/ml  
 Testgefäß 3: 5µg/ml  
 Testgefäß 4: 0µg/ml

### 2.2.1.6 Kritische Betrachtung

Einige wichtige Punkte sollten hier besprochen werden. HESS (1956) bemerkte, daß die Farbentwicklung mit dem alkalischen Pyridin anscheinend beeinflusst wird von bisher unbekanntem Komponenten im Pyridin und daß die Intensität dieser Stoffe variiert, unabhängig von der Reinheit des Pyridins. Deshalb muß man Zitratstandards mit jeder Versuchsreihe mitlaufen lassen. Eine Zitrat-Stocklösung von 100mg/l wird einmal pro Woche frisch hergestellt (wegen des bakteriellen Abbaus) und in einem Kühlschrank aufbewahrt. HESS (1956) erklärte und KISZELY (1974) bestätigte, daß Verdünnungen mit 5µg/ml und 10µg/ml geeignete Standards darstellen. Um eine bewertbare Eichkurve der Konzentration gegen die Extinktion zu erhalten, sollten allerdings mindestens drei Standards verwendet werden. Deshalb ist ein weiterer Standard mit 20µg/ml empfehlenswert. Zusätzlich sollte eine Leerprobe, die 10ml Salzsäure und 10ml destilliertes Wasser enthält, genauso behandelt werden wie Proben und Standards.

HESS (1956) schlug vor, das BBV-Reagenz, das Heptan und das Pyridin mit Hilfe von Büretten hinzuzufügen, da dies die genaueste Dosierung zuließ. Heute ist es aber möglich, eine verstellbare 1ml-Greiner-Kolbenhubpipette (1.000er) mit Einwegspitzen zu verwenden. Die Spitzen müssen, um Kreuzkontaminationen zu vermeiden, individuell für jedes Reagenz und jede Probe verwendet werden.

Das BBV-Reagenz sollte einmal im Monat frisch hergestellt und im Kühlschrank aufbewahrt werden. Die verwendeten Chemikalien müssen allesamt auf analytischem Grade rein sein, und es sollte nur doppelt destilliertes Wasser verwendet werden.

Die Kaliumhydroxid-Lösung muß in einem Plastikgefäß mit einem Kunststoffdeckel aufbewahrt werden, um Berührungen mit Glas zu vermeiden.

Die Zugabe von Schwefelsäure zu der Zitratlösung führt zu einem starken Anstieg der Temperatur; es sollte die Probe deshalb auf jeden Fall in einem Eisbad abgekühlt werden. Wenn das BBV-Reagenz hinzugegeben wird, ohne daß die Temperatur der Probe der Raumtemperatur entspricht, resultiert eine geringere Ausbeute an Pentabromazon.

0,1g Natriumsulfat ist eine geringe Menge; um Verluste zu vermeiden, sollte es auf Wägebepapier gewogen, dann direkt in das danebenstehende Testgefäß gegeben werden. Am besten benutzt man für die Zugabe des Natriumsulfates in das 25ml-Testgefäß einen langen Spatel. Es hat sich als vorteilhaft erwiesen, die Testgefäße in einer Reihe aufzustellen, damit, falls eines von ihnen keine 5ml Probelösung enthalten sollte, das Gefäß mit dem geringsten Inhalt das Volumen aller Proben diktiert.

Wenn die Gefäße bei 80°C erhitzt werden, sollten nur Glasstopfen zum Verschließen benutzt werden, um Kontaminierungen mit Farbpigmenten durch Plastikverschlüsse oder ähnlichem zu vermeiden.

Für die Zentrifugation hat es sich als vorteilhaft erwiesen, Eppendorfgefäße zu verwenden und in einer Tischzentrifuge zu zentrifugieren. Sollte nach den angegebenen 10 Minuten bei 2.500rpm noch eine Trübung der Probenlösung erkennbar sein, was vor allem bei einer geringen Zitratkonzentration vorkommen kann, sollte bei maximaler Drehzahl (hier 12.000rpm) noch einmal für ungefähr 2-3 Minuten zentrifugiert werden. Nach der Zentrifugation muß sofort die Extinktion gemessen werden. Schnelligkeit ist hier äußerst wichtig, da der Farbkomplex mit dem Pyridin instabil ist und sich wieder abbaut. Es entsteht dabei eine Trübung, die die Extinktion ansteigen läßt.

Das wiederholte Entfernen des Wassers aus der Probelösung ist sehr wichtig, um Trübungen der Flüssigkeit, die aus Reaktionen des Wassers mit dem Pyridin entstehen, zu vermeiden. Es hat sich gezeigt, daß es sinnvoll ist, außer der rot-rosa gefärbten Phase auch die darüberliegende mitzuzentrifugieren, da sie eine Art Barriere zwischen Pyridin und Luft bildet. Sie verhindert damit das Entweichen des Pyridins aus der Lösung und somit den Abbau des Farbkomplexes.

Das Erstellen einer Absorptionskurve zeigt ein Extinktionsmaximum des rot-rosa Farbkomplexes bei 340nm (vgl. Abb. 15). Es zeigt sich jedoch, daß der Farbkomplex bei dieser energetisch höheren Wellenlänge noch instabiler ist und noch schneller zerfällt. Aus diesem Grunde wurden die Proben bei 370nm gemessen (Sicherheitsabstand).

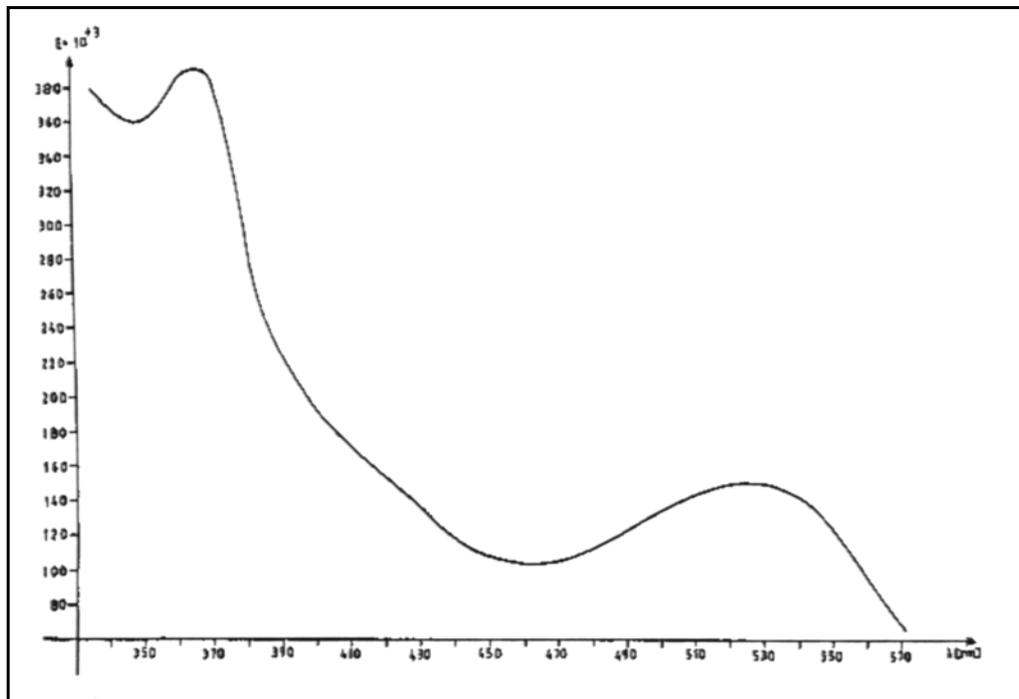


Abbildung 15: Absorptionskurve des rot-rosa Farbstoffes

Es ist unbedingt notwendig, einen Abzug zu benutzen, da die entweichenden Dämpfe nicht nur unangenehm riechen, sondern auch giftig sind. Glasstopfen sollten deshalb immer die Gefäße verschließen, außer beim Erhitzen der Knochenprobe mit Salzsäure in kochendem Wasser und während des Entweichens des Bromwasserstoffes aus den Testgefäßen durch die Reaktion des BBV-Reagenz.

Die Bearbeitung von 4 Knochenproben und den dazugehörigen Standards benötigt ca.  $3\frac{1}{2}$  Stunden, wenn die Proben soweit vorbereitet sind, daß das Knochenmaterial in Salzsäure gelöst ist. Die Kosten betragen für eine Probe (reines Verbrauchsmaterial) bei Bearbeitung einer ganzen Skelettserie 4,40 DM (1996).

### 2.2.1.7 Auswertung

Aus den 4 Standardkonzentrationen und den dazugehörigen ermittelten Extinktionen wird eine Regressionsgerade errechnet. Die Werte für Steigung und Achsenabstand in die allgemeine Geradengleichung eingesetzt ermöglichen es, zu jedem beliebigen y-Wert (Extinktion der Proben, die gemeinsam mit diesen Standards ermittelt wurde) den entsprechenden x-Wert (Zitratkonzentration in mg/l dieser Probe) zu errechnen. Die errechnete Zitratkonzentration in mg/l muß mit 0,2 multipliziert werden, um den Zitratgehalt einer Knochenprobe in Gewichtsprozent des Knochengewichtes auszudrücken (da in 100ml Lösung 50mg Knochen enthalten sind).

Die statistische Bearbeitung der Daten wurde mit Standardverfahren (SACHS 1978) mit dem Programm SPSS durchgeführt. Ausgehend von dem wirklichen (bei dem frischen Knochenmaterial aus Obduktionen und Operationen) bzw. dem durch anthropologische Standardmethoden ermittelten Geschlecht (bei allen bodengelagerten Skelettserien und der Leichenbrandserie) wurden die Männer einer Untersuchungsgruppe den Frauen derselben Gruppe gegenübergestellt. Die einzelnen Untersuchungsgruppen wurden auf Normalverteilung geprüft. Es wurden Mittelwerte und Standardabweichungen der Männer und der Frauen einer Gruppe berechnet und F- und t-Tests durchgeführt, um die Signifikanz der Ergebnisse zu überprüfen.

Bei Varianzhomogenität wurden die Varianzen der Männer und Frauen gemittelt und die daraus errechnete Standardabweichung als gemeinsame Standardabweichung graphisch aufgetragen. Die Normalverteilungskurven für Männer und Frauen einer Untersuchungsgruppe graphisch aufgetragen, oder rechnerisch ermittelt, zeigen einen überlappenden Bereich, in dem eine Geschlechtsbestimmung nicht möglich ist, oder zwangsläufig zu falschen Ergebnissen führt. Ebenfalls bei Varianzhomogenität wurden die Mittelwerte der Männer und Frauen gemittelt und dieses Ergebnis als Grenze zwischen dem Zitratgehalt der Männer und dem Zitratgehalt der Frauen betrachtet (vgl. Abb. 16). Jeder darüberliegende Wert wurde als Zitratgehalt einer Frau, jeder darunterliegende Wert als der eines Mannes angesehen.

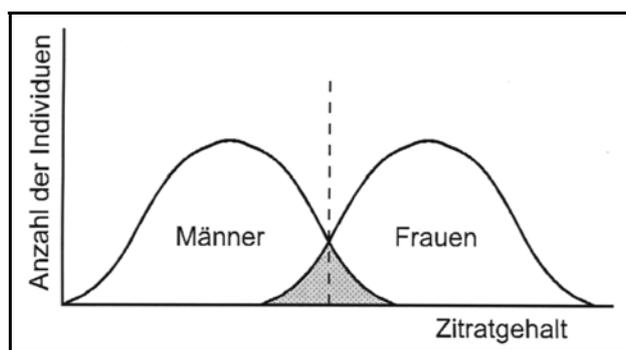


Abbildung 16: Normalverteilungskurven des Zitratgehaltes für Männer und Frauen einer Untersuchungsgruppe

Zum Vergleich der verschiedenen Untersuchungsgruppen untereinander wurden F- und t-Tests durchgeführt.

## 2.2.2 Methode 2 (BOEHRINGER MANNHEIM 1994)

### 2.2.2.1 Chemikalienliste

Die Testkombination enthält:

- 3 Flaschen 1 mit je ca. 1,4g Lyophilisat zusammengesetzt aus: Glycylglycinpuffer, pH 7,8; Malat-Dehydrogenase, ca. 136 U; L-Lactat-Dehydrogenase, ca. 280 U; NADH, ca. 6,0mg; Stabilisatoren
- 3 Flaschen 2 mit je ca. 50mg Lyophilisat Citrat-Lyase, ca. 12 U
- Zitronensäure-Standardlösung zur Testkontrolle

Zur Herstellung der Lösungen zur Testdurchführung wird der Inhalt einer Flasche 1 mit 12ml, der Inhalt einer Flasche 2 mit 0,3ml bidestilliertem Wasser gelöst.

### 2.2.2.2 Theoretische Grundlage

Als weitere Methode zur Zitratbestimmung soll hier ein UV-Test der Firma Boehringer Mannheim genannt werden, der für die quantitative Bestimmung der Zitronensäure in Lebensmitteln entwickelt worden ist.

Die Zitronensäure (Zitrat) wird in der durch das Enzym Citrat-Lyase (CL) katalysierten Reaktion in Oxalacetat und Acetat überführt. In Gegenwart der Enzyme Malat-Dehydrogenase (MDH) und L-Lactat-Dehydrogenase (L-LDH) werden Oxalacetat und dessen Decarboxylierungsprodukt Pyruvat durch reduziertes Nicotinamid-dinukleotid (NADH) zu L-Malat bzw. L-Lactat reduziert. Die Summe der während dieser Reaktionen verbrauchten NADH-Mengen ist der Zitratmenge äquivalent. NADH ist die Meßgröße und wird aufgrund seiner Absorption bei 340nm bestimmt. Abbildung 17 zeigt die entsprechenden Reaktionsgleichungen.

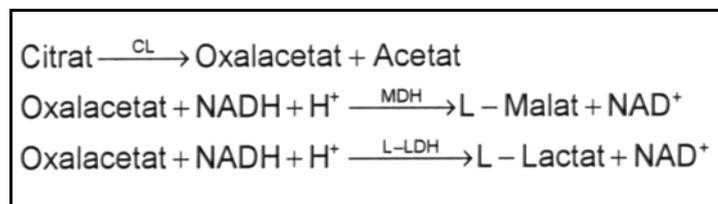


Abbildung 17: Reaktionsgleichungen zur Methode 2 (BOEHRINGER MANNHEIM 1994)

### 2.2.2.3 Vorgehensweise

- Knochenprobe dem Skelett entnehmen, gründlich säubern und bis zur Gewichtskonstanz trocknen
- Knochenprobe fein zermörsern, pulverisieren
- Zu 50mg dieser Probe 10ml Salzsäure hinzufügen und das Ganze ca. 10min in kochendem Wasser stehen lassen
- Wenn sich das Pulver aufgelöst hat, abkühlen lassen und auf 100ml mit destilliertem Wasser auffüllen
- Die saure und schwach gelb gefärbte Probenlösung mit Kalilauge oder Natronlauge auf ca. pH 8 einstellen und ca. 15 Minuten stehenlassen
- 1ml der Lösung 1 in eine Küvette pipettieren, dazu 0,200ml der Probenlösung und 1,800ml bidestilliertes Wasser. Das ganze mischen, nach ca. 20 Minuten die Extinktion der Lösung messen (E<sub>1</sub>). Die Reaktion starten durch Zugabe von 0,020ml der Lösung 2, mischen. Nach Ablauf der Reaktion (ca. 20 Minuten) die Extinktion der Lösung messen (E<sub>2</sub>)

- Zur späteren Berechnung der Zitratkonzentration ist es nötig, eine Leerprobe mitlaufen zu lassen. Sie wird genauso behandelt wie die Testprobe, mit der Ausnahme, daß keine Probenlösung einpipettiert wird. Das dadurch verringerte Volumen der Lösung wird mit bidestilliertem Wasser aufgefüllt.

#### 2.2.2.4 Kritische Betrachtung

Beim Auflösen der Lyophilisaten darf nach der Zugabe von bidestilliertem Wasser nicht heftig geschüttelt werden, da beim Schütteln enzymhaltiger Lösungen einerseits das Enzym denaturiert und damit inaktiviert werden kann, andererseits entstehender Schaum und Luftbläschen zu Pipettierfehlern führen können. Nach der Zugabe der richtigen Wassermenge zum Lyophilisat läßt man sie einige Minuten stehen und löst dann den Inhalt der Flaschen durch leichtes Schwenken.

In der Küvette muß die Zitronensäuremenge zwischen 1µg und 80µg betragen. Das entspricht einer Extinktionsdifferenz ( $E_1 - E_2$ ) < 0,900. Zur Erzielung einer niedrigeren Extinktionsdifferenz ist die Probenlösung soweit zu verdünnen, daß die Zitronensäurekonzentration zwischen 0,02 und 0,4g/l liegt (vgl. Tab. 2).

Geschätzte Menge Zitrat im Liter	Verdünnung mit Wasser	Verdünnungsfaktor F
< 0,4g	-	1
0,4-4,0g	1+9	10
4,0-40g	1+99	100
> 40g	1+999	1000

Tabelle 2: Verdünnungen (nach BOEHRINGER MANNHEIM 1994)

Ist die gemessene Extinktion ( $\Delta E$ ) zu klein (z.B. < 0,001), so kann das in die Küvette zu pipettierende Probevolumen ( $v$ ) bis auf 2ml erhöht werden. In diesem Fall ist das Volumen der hinzuzufügenden Wassermenge entsprechend zu verringern, so daß in den Küvetten für Probe und Leerwert das gleiche Testvolumen vorliegt.

Prinzipiell besteht die Möglichkeit, daß sich in der vorbereiteten Testflüssigkeit schon freies Pyruvat befindet und somit das Meßergebnis verfälscht. Um diesen Fehler auszuschließen, wird Lösung 1 zugegeben, die nicht das Enzym Citrat-Lyase enthält. Das darin enthaltene L-LDH reagiert mit dem freien Pyruvat der Testlösung. Das bei dieser Reaktion verbrauchte NADH wird bei der ersten Extinktionsmessung registriert. Erst nach Zugabe der Lösung 2 wird die Zitronensäure in Oxalacetat und Acetat überführt. Dieses Vorgehen stellt sicher, daß freies Pyruvat nicht erfaßt wird.

Der Inhalt der Flaschen 1 und 2 ist bei +4°C 1 Jahr haltbar. Lösung 1 ist bei +4°C 2 Wochen, bei -20°C 4 Wochen haltbar. Lösung 2 ist bei +4°C 1 Woche, bei -20°C 4 Wochen haltbar.

Im Absorptionsmaximum des NADH bei einer Wellenlänge von 340nm kann nur bei Verwendung eines Spektralphotometers gemessen werden (vgl. Abb. 18). Bei Verwendung von Spektral-Linien-Photometern mit Quecksilber-Dampflampen wird bei einer Meßstrahlung von 365nm oder 334nm gemessen. Bei der späteren Berechnung der Zitratkonzentration muß dann auf den veränderten Extinktionskoeffizienten von NADH geachtet werden.

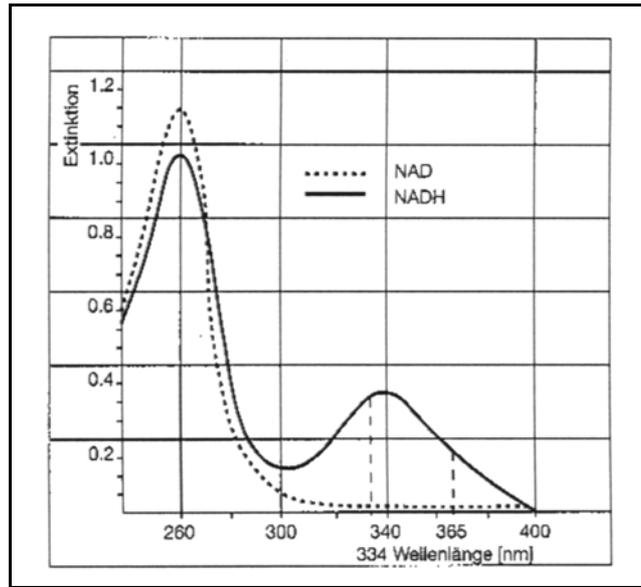


Abbildung 18: Absorptionskurve von NAD und NADH

Vor der Dosierung der Probenlösung muß die verwendete Pipette oder die Pipettenspitze mit der Probenlösung gespült werden. Die Zugabe des bidestillierten Wassers erfolgt mit einer 1.000er Kolbenhubpipette (max. 1ml), die Zugabe der Lösung 1 mit einer 200er Kolbenhubpipette (max. 0,2ml) und die Zugabe der Lösung 2 mit einer 20er Kolbenhubpipette (max. 0,02ml).

Das Mischen der Lösungen kann jeweils mit einem Rührspatel oder durch Umschwenken nach Verschließen der Küvette mit Parafilm geschehen.

Zur Prüfung auf richtige und störungsfreie Durchführung der Bestimmung (keine groben Fehler im Testansatz; Probe frei von Hemmsubstanzen) kann die Standardlösung als interner Standard verwendet werden. Dazu werden neben dem Leerwert und der zu testenden Probe zwei weitere Küvetten verwendet, wobei die erste wie die Probe behandelt wird, anstelle der Testflüssigkeit aber die Zitrat-Standardlösung enthält, die zweite neben den 1,000ml Lösung 1 und den 1,800ml bidestilliertem Wasser 0,100ml Probenlösung und 0,100ml Standardlösung enthält.

Die Wiederfindung des Standards berechnet sich nach:

$$\text{Wiederfindung} = (2 \cdot \Delta E_{\text{Probe+Standard}} - \Delta E_{\text{Probe}}) / \Delta E_{\text{Standard}} \cdot 100[\%]$$

Für 12 Testproben mit den dazugehörigen 4 Leerwerten muß mit einem Zeitaufwand von ca. 1 Stunde gerechnet werden. Die Gesamtkosten (reines Verbrauchsmaterial) für die Bearbeitung einer Skelettserie mit der Methode 2 betragen pro Probe 3,80 DM (1996).

### 2.2.2.5 Auswertung

Für Leerwert und Probe werden die Extinktionsdifferenzen ( $E_1 - E_2$ ) berechnet. Dann wird die Extinktionsdifferenz des Leerwertes von der Extinktionsdifferenz der Probe abgezogen.

$$\Delta E = (E_1 - E_2)_{\text{Probe}} - (E_1 - E_2)_{\text{Leerwert}}$$

Gelegentlich resultiert bei  $(E_1 - E_2)_{\text{Leerwert}}$  ein negativer Wert. Dieser Wert wird dann entsprechend des Berechnungsschemas zu  $(E_1 - E_2)_{\text{Probe}}$  addiert.

Aus der allgemeinen Berechnungsformel für die Bestimmung der Konzentration, unter Berücksichtigung des Extinktionskoeffizienten des NADH bei 340nm von 6,3 [ $\text{l} \cdot \text{mmol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ] und einem Molekulargewicht der zu bestimmenden Substanz von 192,1 [g/mol], ergibt sich ein Multiplikator von 0,46 mit dem die gemessene Extinktion multipliziert werden muß, um das Ergebnis der Zitronensäurekonzentration in g/l zu erhalten.

Ist bei der Probenvorbereitung eine Verdünnung vorgenommen worden, so muß das Ergebnis mit dem Verdünnungsfaktor F multipliziert werden.

Die so gewonnenen Daten zur Zitratkonzentration in g/l müssen zum Vergleich der Ergebnisse mit denen der Methode 1 nach HESS (1956) in mg/l umgerechnet werden.

Die statistische Bearbeitung erfolgte wie bei Methode 1 nach HESS (1956) in Kapitel 2.2.1.7 beschrieben.

Die Ergebnisse dieser Untersuchung mit Methode 2 nach BOEHRINGER MANNHEIM (1994) werden mit den durch Methode 1 nach HESS (1956) gewonnenen Daten verglichen. F- und t-Tests wurden durchgeführt, um die Signifikanz der Ergebnisse nachzuweisen.

### 3 Ergebnisse

#### 3.1 Vergleich zweier Zitratmethoden bei frischem Knochenmaterial

Für diesen Vergleich wurde frisches Knochenmaterial der Lendenwirbelsäule aus Obduktionen und Operationen mit zwei verschiedenen Methoden (Methode nach HESS 1956 und enzymatische Methode nach BOEHRINGER MANNHEIM 1994) auf seinen Zitratgehalt getestet.

Tabelle 3 stellt die Mittelwerte der Ergebnisse der Zitratbestimmung getrennt nach verwendeter Methode, Alter und Geschlecht dar.

Ergebnisse der Zitratbestimmung des frischen Knochenmaterials aus Obduktionen und Operationen mit zwei verschiedenen Methoden				
Altersgruppe	Methode nach HESS (1956)		Methode nach BOEHRINGER MANNHEIM (1994)	
	M	W	M	W
< 21	0,46	0,93	0,60	1,00
21-30	0,53	1,00	0,59	1,10
31-40	0,54	1,10	0,70	1,20
41-50	0,70	1,10	0,80	1,20
51-60	0,82	1,10	1,00	1,20
61-70	0,95	1,10	1,10	1,20
> 70	0,91	1,10	1,15	1,20

Tabelle 3: Ergebnisse der Zitratbestimmung des frischen Knochenmaterials aus Obduktionen und Operationen (M = männlich, W = weiblich)

Abbildung 19 gibt diese Ergebnisse graphisch wider.

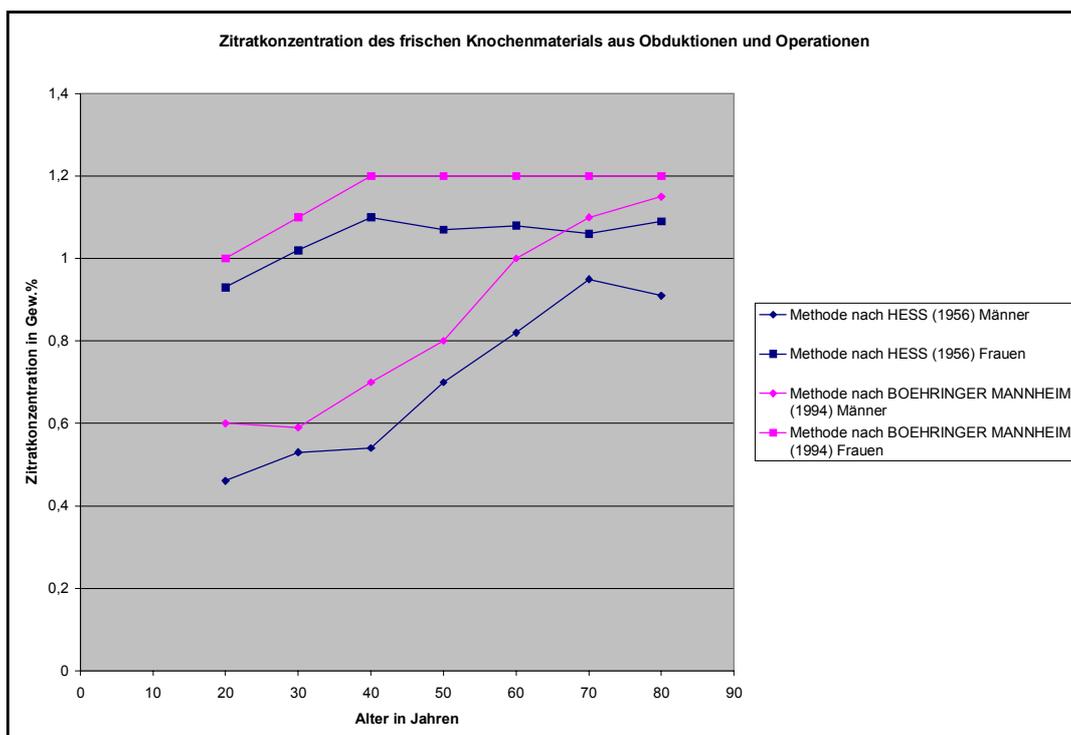


Abbildung 19: Vergleich der Ergebnisse zwischen zwei verschiedenen Methoden

Es gibt keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Zitratmethoden, doch liegen die Ergebnisse der Methode nach BOEHRINGER MANNHEIM (1994) in jeder Altersgruppe und bei beiden Geschlechtern höher als die Ergebnisse der Methode nach HESS (1956).

### 3.2 Bestimmungssicherheit der Zitratmethode bei frischem Knochenmaterial

Um die Bestimmungssicherheit der Methoden nach HESS (1956) und BOEHRINGER MANNHEIM (1994) zu testen, wurde frisches Knochenmaterial, das aus Obduktionen und Operationen stammt (vgl. Kapitel 2.1.1), auf seinen Zitratgehalt hin mit Hilfe beider Methoden untersucht. Da das Geschlecht der Personen, von denen die Knochenproben stammen, bekannt ist, kann man davon ausgehen, daß eine Fehlbestimmung nur auf einen methodischen Fehler zurückzuführen ist.

In Tabelle 4 sind die Ergebnisse der Untersuchung abzulesen. Dargestellt sind laufende Nummer der Individuen, wirkliches Geschlecht, Alter zum Zeitpunkt des Todes (Obduktion), bzw. der Probenentnahme (Operation), ermittelte Zitratkonzentration und daraus resultierendes Geschlecht nach HESS (1956) und nach BOEHRINGER MANNHEIM (1994). Das Buchstabenkürzel P, G oder O hinter dem wirklichen Geschlecht gibt an, aus welcher Quelle die Knochenprobe stammt (P = Pathologie, G = Gerichtsmedizin, O = Operation). Fehlbestimmungen sind dunkel hervorgehoben.

Ergebnisse der Geschlechtsbestimmung an frischem Knochenmaterial aus Obduktionen und Operationen mit Hilfe der Methode nach HESS (1956) und nach BOEHRINGER MANNHEIM (1994)						
Nr.	Geschlecht M = männl. W = weibl.	Alter	Zitratkonz. nach HESS (1956)	Geschlecht nach HESS (1956)	Zitratkonz. nach BM (1994)	Geschlecht nach BM (1994)
1.	M (P)	70	0,98	M	1,11	M
2.	W (G)	34	1,06	W	1,15	W
3.	M (G)	18	0,49	M	0,61	M
4.	M (G)	36	0,57	M	0,71	M
5.	M (P)	69	0,89	M	1,09	M
6.	M (P)	82	0,86	M	1,16	M
7.	M (P)	61	0,92	M	1,15	M
8.	W (P)	56	1,06	W	1,14	W
9.	M (P)	76	0,95	M	1,19	W
10.	W (O)	55	1,12	W	1,20	W
11.	M (O)	39	0,56	M	0,77	M
12.	W (O)	35	1,11	W	1,21	W
13.	W (O)	30	1,13	W	1,18	W
14.	M (O)	39	0,65	M	0,75	M
15.	M (O)	53	0,88	M	0,92	M
16.	M (O)	53	0,79	M	0,96	M
17.	M (O)	33	0,52	M	0,66	M
18.	M (O)	23	0,47	M	0,60	M
19.	W (O)	68	1,12	W	1,22	W
20.	M (G)	31	0,42	M	0,59	M

21.	M (G)	25	0,45	M	0,57	M
22.	M (G)	46	0,68	M	0,74	M
23.	W (G)	27	0,95	W	1,15	W
24.	M (G)	30	0,41	M	0,57	M
25.	M (G)	34	0,50	M	0,61	M
26.	W (G)	27	1,14	W	1,20	W
27.	W (G)	20	0,98	W	1,02	W
28.	M (G)	42	0,66	M	0,75	M
29.	M (G)	27	0,78	n.b.	0,63	M
30.	W (O)	20	0,87	W	0,99	W
31.	W (O)	37	1,15	W	1,22	W
32.	M (O)	68	1,00	n.b.	1,15	M
33.	W (O)	48	1,08	W	1,20	W
34.	W (O)	41	1,06	W	1,21	W
35.	W (O)	35	1,12	W	1,18	W
36.	W (O)	46	1,10	W	1,23	W
37.	M (O)	47	0,69	M	0,81	M
38.	W (O)	39	1,03	W	1,17	W
39.	W (O)	71	1,09	W	1,19	W
40.	M (O)	20	0,43	M	0,58	M
41.	W (O)	63	1,00	n.b.	1,21	W
42.	W (O)	42	1,04	W	1,19	W
43.	W (G)	21	0,87	W	1,00	W
44.	M (O)	49	0,75	M	1,00	M
45.	W (O)	67	1,09	W	1,17	n.b.
46.	W (O)	62	1,04	W	1,22	W
47.	W (O)	33	1,11	W	1,16	W
48.	M (O)	56	0,78	M	0,97	M
49.	W (O)	47	1,09	W	1,21	W
50.	M (O)	41	0,73	M	0,82	M
51.	W (P)	80	1,08	W	1,19	W
52.	W (O)	53	1,09	W	1,21	W
53.	W (O)	59	1,03	W	1,17	W
54.	M (O)	52	0,82	M	0,95	M

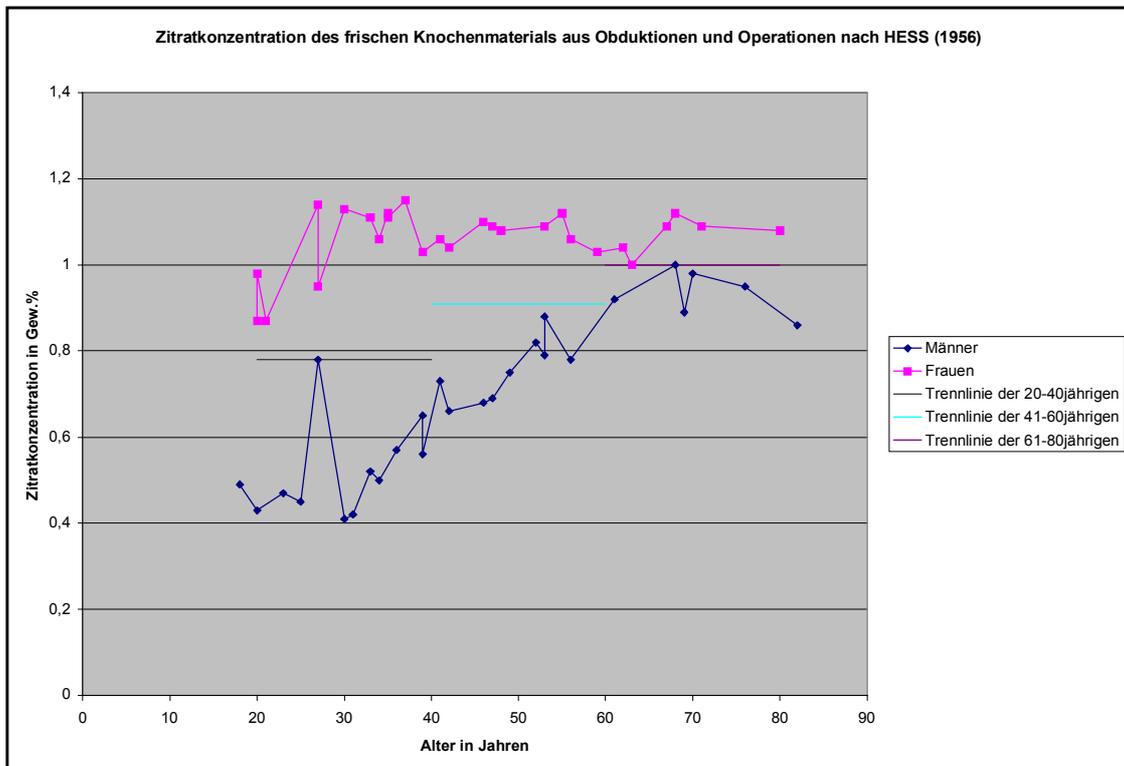
Tabelle 4: Ergebnisse der Geschlechtsbestimmung des frischen Knochenmaterials aus Obduktionen und Operationen (M = männlich, W = weiblich, P = Pathologie, G = Gerichtsmedizin, O = Operation, BM = BOEHRINGER MANNHEIM, n.b. = nicht bestimmbar)

Für jede Altersgruppe (18-40 Jahre, 41-60 Jahre und über 60 Jahre) wurde ein Trennwert berechnet. Mit der Methode nach HESS (1956) konnten 3 Personen nicht geschlechtsbestimmt werden. Daraus errechnet sich ein Fehler von 5,6%. Die Knochenproben der Personen Nr. 29, 32 und 41 waren aufgrund des errechneten Trennwertes der jeweiligen Altersgruppe keinem Geschlecht zuzuordnen und mußten unbestimmt bleiben. Mit der Methode nach BOEHRINGER MANNHEIM (1994) errechnet sich ein Fehler von 3,7% (2 Personen fehlbestimmt). Die Knochenprobe von Person Nr. 45 war nach der Berechnung des Trennwertes der über 60jährigen keinem Geschlecht zuzuordnen, die Knochenprobe von Person Nr. 9 wurde als Frau bestimmt.

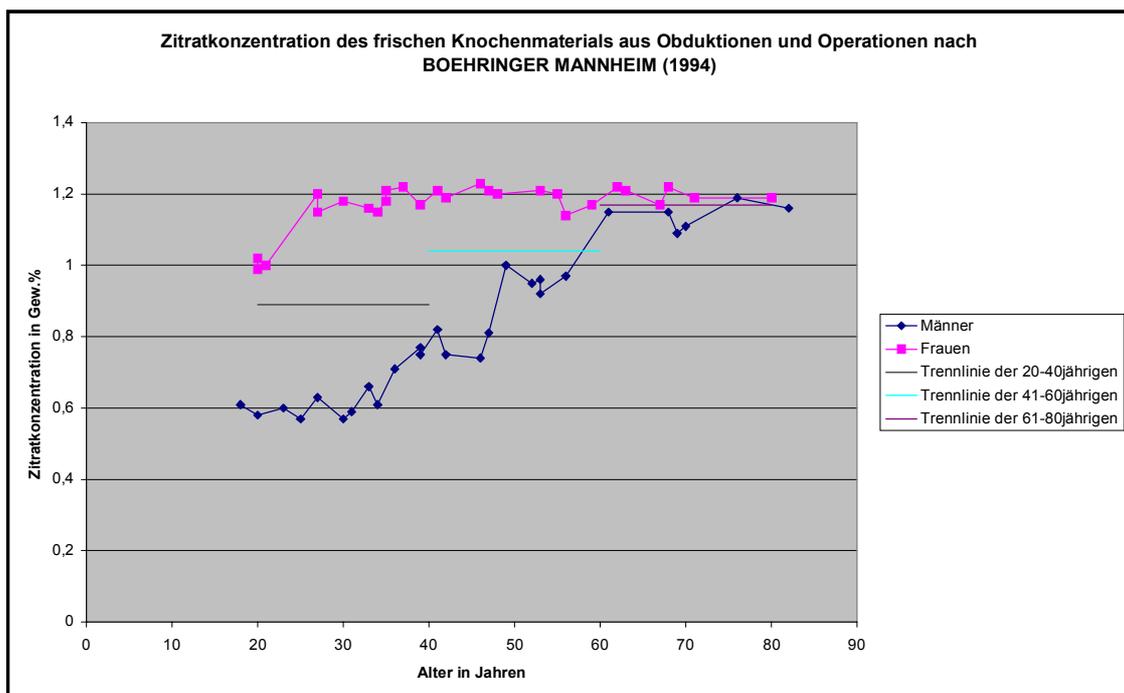
Die Abbildungen 20 und 21 zeigen die Ergebniskurven der Einzelwerte.

Abbildung 20 stellt die Zitratkonzentrationen in Abhängigkeit von Lebensalter und Geschlecht dar, die mit der Methode nach HESS (1956) ermittelt wurden, Abbildung 21 die Ergebnisse der Methode nach BOEHRINGER MANNHEIM (1994).

In beiden Abbildungen sind die jeweiligen Trennlinien der Trennwerte mit eingezeichnet, die die errechneten Grenzwerte der Zitratkonzentration zwischen Männern und Frauen einer Altersgruppe darstellen.



**Abbildung 20: Zitratkonzentration des frischen Knochenmaterials aus Obduktionen und Operationen in Abhängigkeit von Lebensalter und Geschlecht nach HESS (1956)**



**Abbildung 21: Zitratkonzentration des frischen Knochenmaterials aus Obduktionen und Operationen in Abhängigkeit von Lebensalter und Geschlecht nach BOEHRINGER MANNHEIM (1994)**

### 3.3 Lokale Abhängigkeit der Zitratinlagerung

Für die Beantwortung der Frage nach der unterschiedlichen Zitratinlagerung in Knochen verschiedener Körperregionen sind bei der Skelettserie Grödig Knochenproben aus den Vertebrae lumbalis (Lendenwirbelkörperspongiosa), den Humeri dextra und sinistra (Kompakta aus rechten und linken Oberarmknochen) sowie aus den Femora dextra und sinistra (Kompakta aus rechten und linken Oberschenkelknochen) von jedem Skelettindividuum entnommen worden. Von jedem Skelett lagen also 5 Proben vor (mit Ausnahme der Skelette Nr. 76 und Nr. 82, bei denen kein Lumbalwirbel gefunden werden konnte). Alle Proben wurden mit der Methode nach BOEHRINGER MANNHEIM (1994) auf ihren Zitratgehalt getestet.

In Tabelle 5 sind die Ergebnisse zusammengefaßt. Neben der Grabnummer, den anthropologischen Ergebnissen von Alters- und Geschlechtsbestimmung, sind weiterhin der Zitratgehalt und das daraus resultierende Geschlecht angeführt. Fehlbestimmungen sind dunkel hervorgehoben.

Ergebnisse der Geschlechtsbestimmung von Knochenmaterial der Skelettserie Grödig aus verschiedenen Skelettregionen												
Nr.	M/W	Alter	Vertebra		Hum. dex.		Hum. sin.		Fem. dex.		Fem. sin.	
			Konz	M/W	Konz	M/W	Konz	M/W	Konz	M/W	Konz	M/W
17	W	34	0,95	W	0,92	W	0,90	W	0,99	W	0,97	W
19	W	25	0,71	W	0,76	W	0,73	W	0,77	W	0,72	W
30	M	20-25	0,45	M	0,55	M	1,03	W	0,47	M	0,44	M
31	M	20-25	0,51	M	0,47	M	0,52	M	0,49	M	0,48	M
39	W	20-30	0,80	W	0,71	W	0,76	W	0,85	W	0,75	W
44	M	25-30	0,46	M	0,50	M	0,81	W	0,54	M	0,55	M
47	W	30-40	1,00	W	1,02	W	0,99	W	0,97	W	1,01	W
52	M	30-40	0,82	W	0,88	W	0,83	W	0,91	W	0,87	W
56	W	20-30	0,69	W	0,76	W	0,83	W	0,72	W	0,70	W
59	W	30-40	0,92	W	0,98	W	0,95	W	0,51	M	1,00	W
76	W	17-20	-	-	0,74	W	0,68	W	0,70	W	0,66	W
82	W	25	-	-	0,45	M	0,73	W	0,80	W	0,76	W
86	W	25-35	0,88	W	0,83	W	0,83	W	0,90	W	0,86	W
95	W	30-50	0,96	W	0,94	W	0,98	W	0,93	W	0,91	W

Tabelle 5: Ergebnisse der Geschlechtsbestimmung des Knochenmaterials der Skelettserie Grödig aus verschiedenen Skelettregionen (M = männlich, W = weiblich, Hum. = Humerus, Fem. = Femur, dex. = dexter, sin. = sinister, Konz. = Zitratkonzentration in Gew.%)

Zur besseren Übersicht sind die Ergebnisse in den beiden Abbildungen 22 und 23 getrennt nach Geschlechtern dargestellt. Mit Ausnahme des Skelettindividuums Nr. 52 betrifft eine Fehlbestimmung immer nur eine Skelettregion. Diese Fehlbestimmungen sind aus den Abbildungen deutlich zu erkennen. Von insgesamt 68 Knochenproben wurden 9 fehlbestimmt (13,2%), wenn man davon ausgeht, daß das Skelettindividuum Nr. 52 mit herkömmlichen anthropologischen Methoden korrekt als Mann bestimmt war. Geht man dagegen davon aus, daß die Zitratmethode das Geschlecht weiblich korrekt bestimmt hat, errechnet sich ein Fehler von 5,9%.

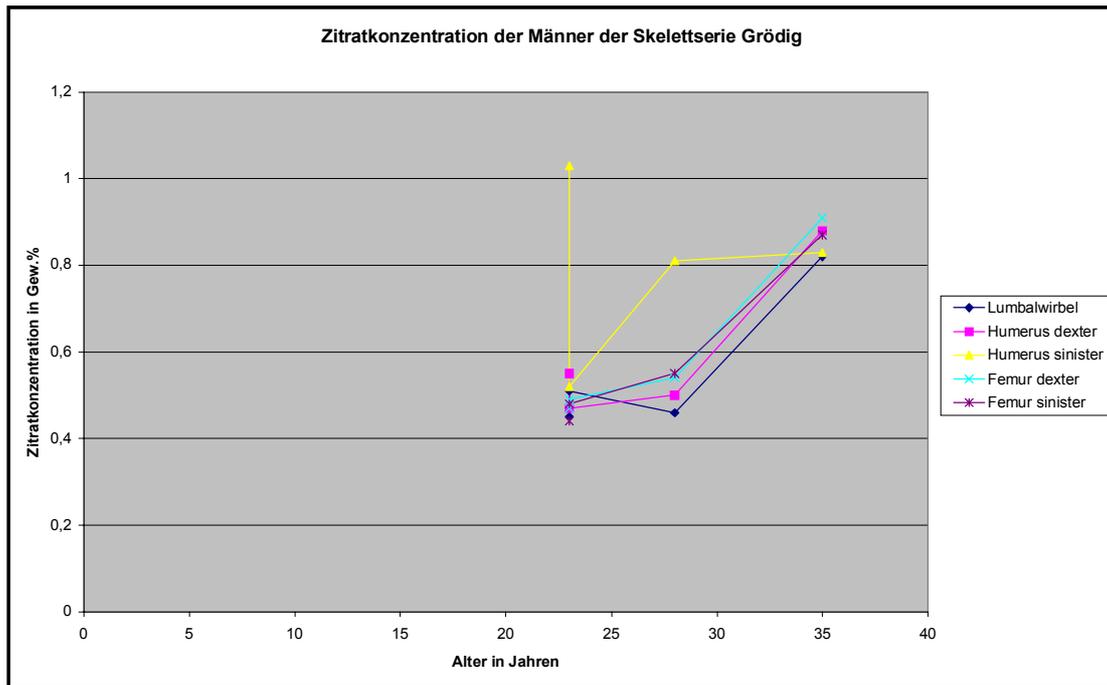


Abbildung 22: Zitratkonzentration des Knochenmaterials der Männer der Skelettserie Grödig aus verschiedenen Skelettregionen in Abhängigkeit vom Lebensalter

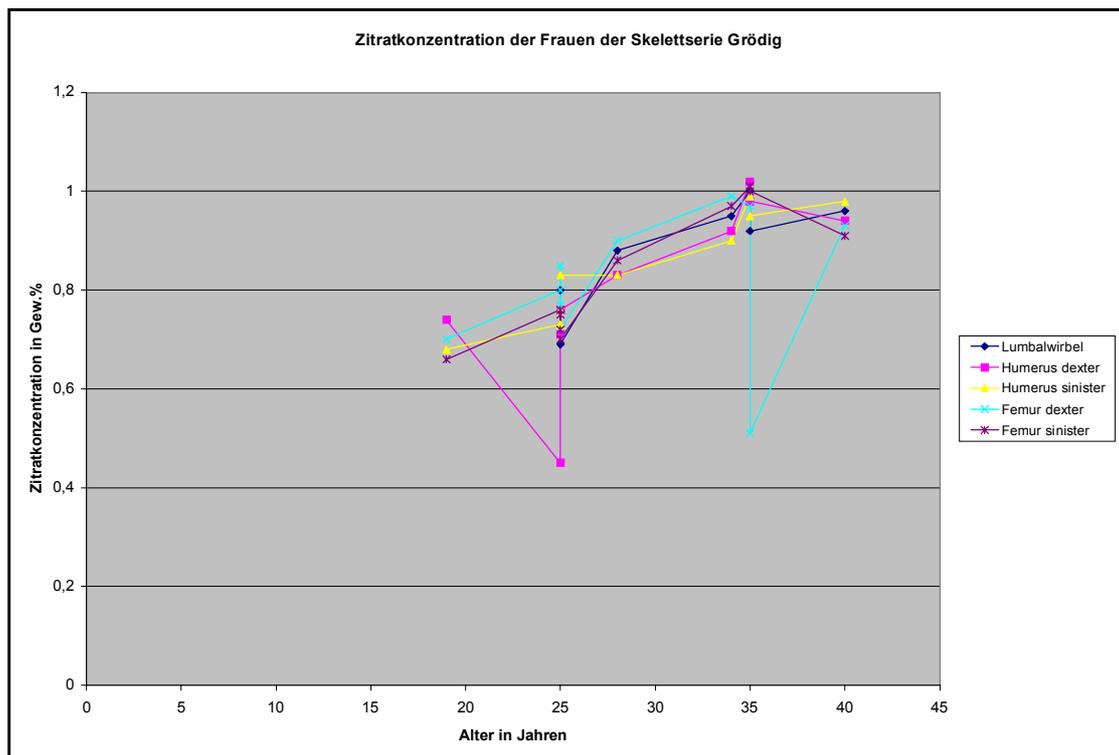


Abbildung 23: Zitratkonzentration des Knochenmaterials der Frauen der Skelettserie Grödig aus verschiedenen Skelettregionen in Abhängigkeit vom Lebensalter

Aufgrund der statistischen Auswertung waren keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Skelettregionen feststellbar, d.h., theoretisch könnten Knochenproben aus allen Skelettregionen verwendet werden (Spongiosa genauso wie Kompakta).

### 3.4 Zusammenhang zwischen Lebensalter und Zitratgehalt

Es wurden Knochenproben von Skelettindividuen verschiedener Altersklassen der Skelettserie Pleidelsheim entnommen. Bei den Individuen der Altersklassen Adult, Matur und Senil wurden Proben aus den Vertebrae lumbalis (Lendenwirbelkörperspongiosa) zur Zitratkonzentrationbestimmung genutzt, zum besseren Vergleich der Daten mit den anderen Untersuchungsgruppen (vgl. Kapitel 3.6). Bei den Individuen der Altersklassen Infans I, Infans II und Juvenis wurden in Ermangelung der Wirbelkörper Knochenproben der Humeri (Kompakta der Oberarmknochen) entnommen. Da in Kapitel 3.3 (Lokale Abhängigkeit der Zitratinlagerung) keine signifikanten Unterschiede zwischen den Körperregionen in Bezug auf den Zitratgehalt festgestellt werden konnten, ist der Vergleich der gewonnenen Daten möglich. Alle Knochenproben wurden mit der Methode nach BOEHRINGER MANNHEIM (1994) getestet.

In Tabelle 6 sind die Ergebnisse zusammengefasst. Neben der Grabnummer, der archäologischen Geschlechtsbestimmung, den anthropologischen Ergebnissen von Alter- und Geschlechtsbestimmung, sind weiterhin der Zitratgehalt und das daraus resultierende Geschlecht angeführt. Fehlbestimmungen sind dunkel hervorgehoben.

Ergebnisse der Geschlechtsbestimmung von Knochenmaterial der Skelettserie Pleidelsheim					
Grabnr.	anthr. Geschlecht	arch. Geschlecht	Alter	Zitratkonz. in Gew. %	Geschlecht
155	M		30-40	0,45	M
158	M		60-70	0,70	M
162	n.b.	M	5- 7	0,37	M
165	W		30-40	0,76	W
169	n.b.		9-10	0,35	M
172	W		60-70	0,78	W
174	n.b.	W	10-12	0,38	n.b.
176	W		60-80	0,79	W
177	W		50-70	0,80	W
179	W		40-60	0,77	W
181	W		60-70	0,80	W
182	n.b.	W	10-11	0,42	W
187	W		40-60	0,79	W
189	n.b.	W	8-9	0,39	W
190	W		20-25	0,75	W
192	n.b.		2-3	0,37	M
194	n.b.		6	0,40	W
196	W		30-40	0,77	W
199	n.b.	M	14-16	0,36	M
200	W		14-16	0,58	W
201	n.b.		3-4	0,35	M
207	n.b.	W	10-12	0,41	W
209	n.b.		3	0,38	n.b.
211	W		40-50	0,78	W
217	W		50-60	0,77	W
218	W		40-60	0,76	W
220	W		35-45	0,78	W

221	M		50-60	0,61	M
225b	W		30-40	0,75	W
227	n.b.	M	14-16	0,39	M
229	M		20-25	0,41	M
230	n.b.	M	12-14	0,38	M
231	M		30-50	0,44	M
234	W		60-80	0,76	W
238	n.b.	M	5-6	0,36	M
243	M		35-35	0,39	M
244	M		25-35	0,42	M
245	M		50-70	0,68	M
246	W		25-30	0,79	W
248b	n.b.		6-7	0,41	W
250	W		8-9	0,40	W
253b	n.b.		5-6	0,36	M
253c	n.b.		15	0,63	W
255	n.b.		4-6	0,41	W
258	M		40-50	0,53	M
259	M		40-60	0,58	M
260	n.b.	M	5-6	0,34	M
262	n.b.		4-6	0,39	W

Tabelle 6: Ergebnisse der Geschlechtsbestimmung des Knochenmaterials der Skelettserie Pleidelsheim (M = männlich, W = weiblich, n.b. = nicht bestimmbar, anthr. = anthropologisch, arch. = archäologisch)

Für jede Altersgruppe (0-6 Jahre, 7-12 Jahre, 13-20 Jahre, 21-40 Jahre, 41-60 Jahre und über 60 Jahre) wurde ein Trennwert berechnet.

Es konnten 2 Skelettindividuen nicht geschlechtsbestimmt werden. Daraus errechnet sich ein Fehler von 4,2%. Die Knochenproben der Personen Nr. 174 und 209 waren aufgrund des errechneten Trennwertes der jeweiligen Altersgruppe keinem Geschlecht zuzuordnen und mußten unbestimmt bleiben.

Abbildung 24 zeigt die Ergebniskurve der Einzelwerte in Abhängigkeit von Lebensalter und Geschlecht. In der Abbildung sind die jeweiligen Trennlinien der Trennwerte mit eingezeichnet, die die errechneten Grenzwerte der Zitratkonzentration zwischen Männern und Frauen einer Altersgruppe darstellen.

Die t-Tests zeigen deutlich signifikante Unterschiede zwischen den Geschlechtern in Bezug auf den Zitratgehalt in den Altersgruppen Juvenis, Adult und Matur. Die Altersklasse Senil konnte nicht statistisch untersucht werden, da nur ein Skelettindividuum als m3 bestimmt war. In Tabelle 7 sind die signifikanten Unterschiede zwischen zwei Altersklassen, bzw. zwischen den Geschlechtern mit ‚s‘ gekennzeichnet.

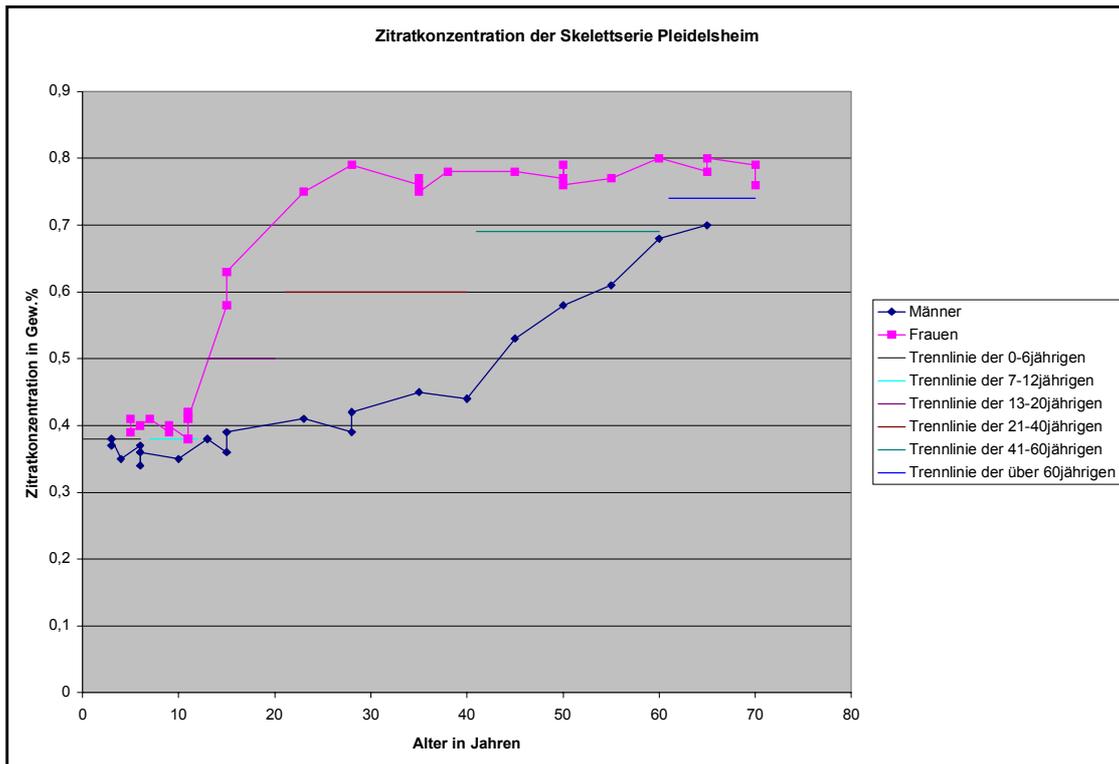


Abbildung 24: Zitratkonzentration des Knochenmaterials der Skelettserie Pleidelsheim in Abhängigkeit von Lebensalter und Geschlecht

Signifikante Unterschiede innerhalb der Skelettserie Pleidelsheim													
Alters-klasse	M/W	Infans I		Infans II		Juvenis		Adult		Matur		Senil	
		M	W	M	W	M	W	M	W	M	W	M	W
Infans I	M	-			-		-		-	S	-	-	-
	W		-	-		-	S	-	S	-	S	-	S
Infans II	M		-	-			-		-	S	-	-	-
	W	-			-	-	S	-	S	-	S	-	S
Juvenis	M		-		-	-	S		-	S	-	-	-
	W	-	S	-	S	S	-	-	S	-	S	-	S
Adult	M		-		-		-	-	S	S	-	-	-
	W	-	S	-	S	-	S	S	-	-		-	
Matur	M	S	-	S	-	S	-	S	-	-	S	-	-
	W	-	S	-	S	-	S	-		S	-	-	
Senil	M	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	W	-	S	-	S	-	S	-		-		-	-

Tabelle 7: Signifikante Unterschiede zwischen den Geschlechtern und den verschiedenen Altersgruppen in Bezug auf den Zitratgehalt des Knochenmaterials der Skelettserie Pleidelsheim (M = männlich, W = weiblich, s = signifikanter Unterschied)

### 3.5 Geschlechtsbestimmung einer kompletten Skelettserie

Wie schon erwähnt wurden bisher, mit Ausnahme der Kinder und Jugendlichen der Skelettserie Pleidelsheim, nur Individuen für die Zitratbestimmung verwendet, deren Geschlecht entweder bekannt (frisches Knochenmaterial aus Obduktionen und Operationen) oder aber mit anthropologischen (morphometrischen) Methoden als m3/w3 bestimmt war. In jeder Skelettserie gibt es daneben Individuen, die entweder gar nicht oder nur mit Einschränkungen (m2/w2, m1/w1) geschlechtsbestimmt werden können. Um zu überprüfen, ob diese Individuen mit der Zitratmethode einem Geschlecht zu zuordnen sind, wurde die gesamte Skelettserie Kamid el-Loz (sofern ein Lumbalwirbel vorhanden war) untersucht.

In Tabelle 8 sind die Ergebnisse zusammengefasst. Neben der Grabnummer, den anthropologischen Ergebnissen von Alter- und Geschlechtsbestimmung, sind weiterhin der Zitratgehalt und das daraus resultierende Geschlecht angeführt. Fehlbestimmungen sind dunkel hervorgehoben.

Ergebnisse der Geschlechtsbestimmung von Knochenmaterial der Skelettserie Kamid el-Loz				
Grabnummer	Geschlecht	Alter	Zitratkonz.	Geschlecht
1	W1	15-18	0,40	W
2	W3	20-25	0,54	W
2	n.b.	0,5-1	0,29	M
4	W2	16-18	0,42	W
5	W3	25-35	0,62	W
6	W3	50-70	0,68	W
9	W2	20-30	0,55	M
10	n.b.	1,5-2,5	0,28	M
11	W3	35-50	0,66	W
13	n.b.	2-2,5	0,32	n.b.
15	W3	30-50	0,65	W
17	M3	50-70	0,63	W
18	W3	20-25	0,57	W
19	M2	20-25	0,33	M
20	n.b.	4-5	0,30	M
21	M3	40-60	0,45	M
23	M3	40-60	0,46	M
24	n.b.	14-16	0,32	M
25	n.b.	10	0,31	M
26	M3	20-25	0,30	M
27	M3	40-60	0,47	M
28	n.b.	3,5-4	0,34	W
30	M3	40-60	0,44	M
33	n.b.	0,5	0,31	M
35	n.b.	0	0,34	W
36	n.b.	7-8	0,35	W
37	M3	> 60	0,59	M
39	M3	30-40	0,33	M
46	M3	20-30	0,32	M
47	W3	18-22	0,49	W
48	W2	30-40	0,67	W

50	W3	> 30	0,66	W
51	M3	> 60	0,61	M
52	W3	25-35	0,59	W
55	M3	40-60	0,47	M
57	W2	40-50	0,69	W
59	M3	50-60	0,51	M
61	M3	40-60	0,45	M
62	M2	18	0,31	M
63	n.b.	14	0,36	M
65	W3	30-35	0,63	W
68	W3	25-35	0,62	W
69	n.b.	13-15	0,37	n.b.
70	M3	30-50	0,36	M
71	W3	20-30	0,56	W
72	M1	8-10	0,33	M
75	M3	40-70	0,52	M
76	W3	18-22	0,5	W
77	M1	12-14	0,32	M
83	M2	25-40	0,34	M

**Tabelle 8: Ergebnisse der Geschlechtsbestimmung des Knochenmaterials der Skelettserie Kamid el-Loz (Konz. = Zitratkonzentration in Gew.%, M = männlich, W = weiblich, n.b. = nicht bestimmbar)**

Für jede Altersgruppe (0-6 Jahre, 7-12 Jahre, 13-20 Jahre, 21-40 Jahre, 41-60 Jahre und über 60 Jahre) wurde ein Trennwert berechnet.

Es konnten 2 Skelettindividuen nicht geschlechtsbestimmt werden, 1 Individuum wurde fehlbestimmt. Daraus errechnet sich ein Fehler von 6%. Die Knochenproben der Skelettindividuen Nr. 13 und 69 waren aufgrund des errechneten Trennwertes der jeweiligen Altersgruppe keinem Geschlecht zuzuordnen und mußten unbestimmt bleiben. Skelettindividuum Nr. 17 wurde aufgrund des errechneten Trennwertes seiner Altersgruppe als weiblich bestimmt, mit morphometrischen Methoden dagegen als männlich.

Abbildung 25 zeigt die Ergebniskurve der Einzelwerte in Abhängigkeit von Lebensalter und Geschlecht. In der Abbildung sind die jeweiligen Trennlinien der Trennwerte mit eingezeichnet, die die errechneten Grenzwerte der Zitratkonzentration zwischen Männern und Frauen einer Altersgruppe darstellen.

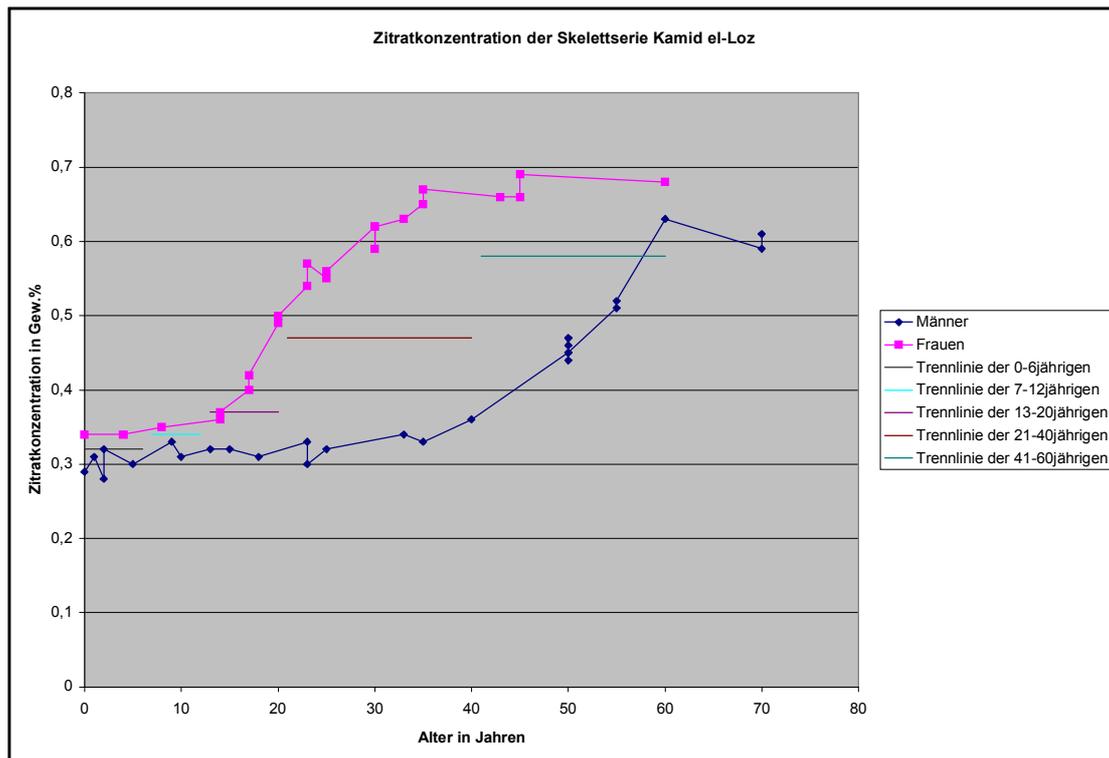


Abbildung 25: Zitratkonzentration des Knochenmaterials der Skelettserie Kamid el-Loz in Abhängigkeit von Lebensalter und Geschlecht

### 3.6 Anwendbarkeit der Zitratmethode auf Leichenbrände

Für diesen Versuchsabschnitt wurde die Leichenbrandserie Münster-Gittrup verwendet. Es wurden Knochenfragmente aus der Wirbelsäule ausgesucht, die bei allen Individuen den gleichen Verbrennungsgrad zeigten.

In Tabelle 9 sind die Ergebnisse zusammengefaßt. Neben der Grabnummer, den anthropologischen Ergebnissen von Alter- und Geschlechtsbestimmung, sind weiterhin der Zitratgehalt und das daraus resultierende Geschlecht angeführt. Fehlbestimmungen sind dunkel hervorgehoben.

Ergebnisse der Geschlechtsbestimmung von Knochenmaterial der Leichenbrandserie Münster-Gittrup				
Grabnummer	Geschlecht	Alter	Zitratkonz.	Geschlecht
5	M	30-50	0,28	M
64	W	20-40	0,51	W
65	W	20-40	0,53	W
69	M	20-30	0,22	M
71	W	20-30	0,54	W
72	W	22-30	0,52	W
76	M	25-30	0,25	M
78	M	30-50	0,27	M
84	W	18-25	0,51	W
110	M	20-40	0,23	M
122	M	30-50	0,28	M
125	M	20-40	0,24	M

145	M	30-50	0,29	M
162	M	30-40	0,26	M
170	M	30-50	0,30	M
177	M	20-40	0,25	M
194	M	20-40	0,21	M
196	M	20-40	0,23	M
198	W	18-20	0,48	W
210	W	20-50	0,54	W
237	W	30-50	0,54	W
238	W	18-22	0,49	W
245	M	30-50	0,29	M
248	M	30-50	0,30	M
279	W	20-40	0,55	W

Tabelle 9: Ergebnisse der Geschlechtsbestimmung des Knochenmaterials der Leichenbrandserie Münster-Gittrup (Konz. = Zitratkonzentration in Gew.%, M = männlich, W = weiblich)

Für die Altersgruppen Adult und Matur (21-40 Jahre und über 40 Jahre) wurde ein Trennwert berechnet.

Alle Knochenproben der Leichenbrandserie Münster-Gittrup wurden aufgrund des errechneten Trennwertes der jeweiligen Altersgruppe mit dem gleichen Geschlecht bestimmt, zu dem auch die anthropologische Geschlechtsbestimmung führte. Der Fehler beträgt daher 0%.

Abbildung 26 zeigt die Ergebniskurve der Einzelwerte in Abhängigkeit von Lebensalter und Geschlecht. In der Abbildung sind die jeweiligen Trennlinien der Trennwerte mit eingezeichnet, die die errechneten Grenzwerte der Zitratkonzentration zwischen Männern und Frauen einer Altersgruppe darstellen.

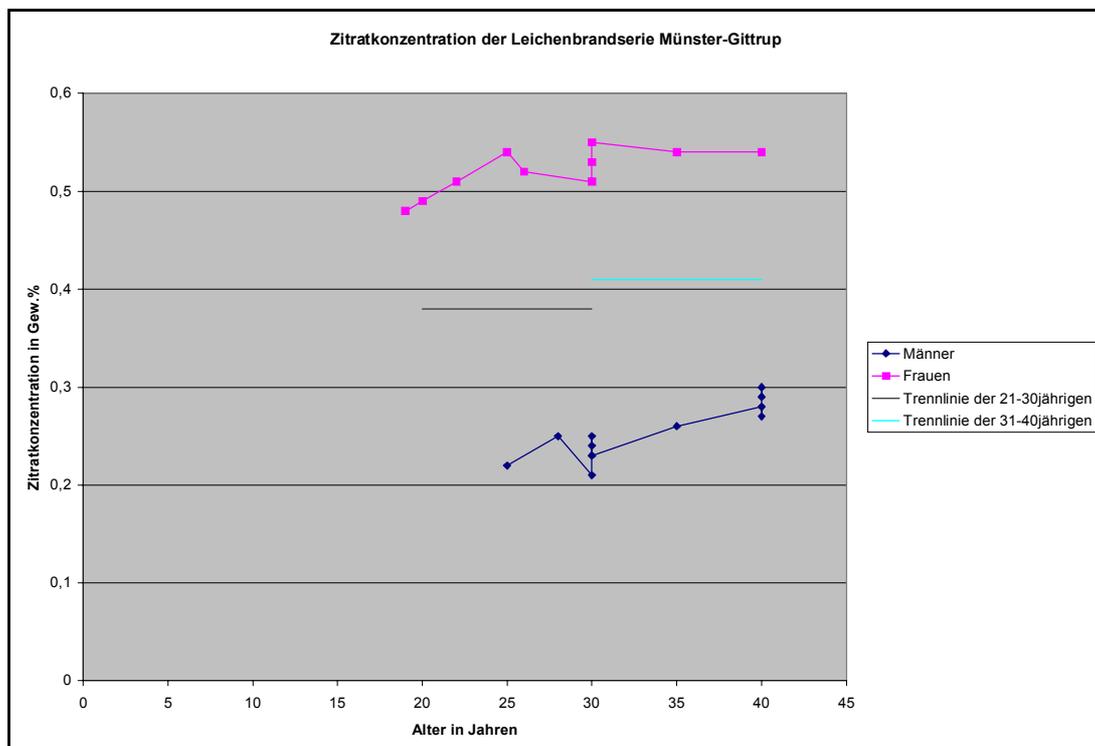


Abbildung 26: Zitratkonzentration des Knochenmaterials der Leichenbrandserie Münster-Gittrup in Abhängigkeit von Lebensalter und Geschlecht

### 3.7 Bestimmungssicherheit der Methode bei historischem Skelettmaterial

Zur Beantwortung dieser Frage wurden die Ergebnisse aus den bisher erwähnten Skelettserien Grödig, Pleidelsheim und Kamid el-Loz und der Leichenbrandserie Münster-Gittrup verwendet. Zusätzlich wurden Daten aus der Skelettserie Trebur (Hinkelstein und Großgartach) berücksichtigt.

Die Ergebnisse der Skelettserie Grödig sind in der Tabelle 5 sowie den Abbildungen 22 und 23 in Kapitel 3.3 dargestellt.

Die Ergebnisse der Skelettserie Pleidelsheim finden sich in der Tabelle 6 und der Abbildung 24 in Kapitel 3.4.

In Tabelle 8 und Abbildung 25 in Kapitel 3.5 sind die Ergebnisse der Skelettserie Kamid el-Loz dargestellt.

In Tabelle 9 und Abbildung 26 in Kapitel 3.6 finden sich die Ergebnisse der Leichenbrandserie Münster-Gittrup.

In Tabelle 10 sind die Ergebnisse der Skelettserie Trebur zusammengefaßt. Neben der jeweiligen Kulturgruppe, der Grabnummer, den anthropologischen Ergebnissen von Alter- und Geschlechtsbestimmung, sind weiterhin der Zitratgehalt und das daraus resultierende Geschlecht angeführt. Fehlbestimmungen sind dunkel hervorgehoben.

Ergebnisse der Geschlechtsbestimmung von Knochenmaterial der Skelettserie Trebur					
Grabnr.	Kulturgruppe	Geschlecht	Alter	Zitratkonz.	Geschlecht
6	Großgartach	W	20-30	0,39	M
7	Großgartach	W	30-50	0,49	W
12	Großgartach	M	18-20	0,23	M
16	Großgartach	W	26-30	0,41	W
18	Großgartach	M	32-48	0,28	M
19	Großgartach	W	30-35	0,47	W
25	Großgartach	W	20-23	0,36	W
31	Großgartach	W	37-53	0,49	W
35	Großgartach	W	26-30	0,38	W
36	Großgartach	M	41-47	0,30	M
37	Hinkelstein	W	30-50	0,47	W
38	Großgartach	W	36-45	0,48	W
40	Hinkelstein	W	25-34	0,40	W
44	Hinkelstein	W	20-23	0,33	W
46	Hinkelstein	W	20-31	0,34	W
52	Hinkelstein	M	35-50	0,26	M
58	Großgartach	W	18-20	0,37	W
63	Hinkelstein	W	30-50	0,45	W
67	Hinkelstein	M	25-30	0,20	M
69	Hinkelstein	W	25-34	0,37	W
76	Hinkelstein	W	20-26	0,35	W
78	Hinkelstein	M	36-52	0,24	M
81	Hinkelstein	W	30-40	0,42	W
85	Hinkelstein	W	30-50	0,44	W
91	Hinkelstein	M	20-26	0,18	M
95	Hinkelstein	M	20-40	0,22	M
103	Hinkelstein	W	30-50	0,46	W

107	Hinkelstein	M	30-40	0,24	M
108	Hinkelstein	M	20-40	0,21	M
110	Hinkelstein	W	35-44	0,44	W
115	Hinkelstein	W	20-26	0,36	W
125	Hinkelstein	W	20-40	0,38	W
129	Hinkelstein	W	26-42	0,41	W
130	Großgartach	M	18-20	0,22	M

Tabelle 10: Ergebnisse der Geschlechtsbestimmung des Knochenmaterials der Skelettserie Trebur (Konz. = Zitratkonzentration in Gew.%, M = männlich, W = weiblich)

Für die Altersgruppen Adult und Matur (21-40 Jahre und über 40 Jahre) wurde getrennt nach den beiden Kulturgruppen Hinkelstein und Großgartach ein Trennwert berechnet.

Alle Knochenproben der Skelettserie Trebur wurden aufgrund des errechneten Trennwertes der jeweiligen Altersgruppe mit dem gleichen Geschlecht bestimmt, zu dem auch die anthropologische Geschlechtsbestimmung führte. Der Fehler beträgt daher 0%.

Zur besseren Übersicht sind die Ergebnisse in den beiden Abbildungen 27 und 28 getrennt nach den beiden Kulturgruppen dargestellt. In den Abbildungen sind die jeweiligen Trennlinien der Trennwerte mit eingezeichnet, die die errechneten Grenzwerte der Zitratkonzentration zwischen Männern und Frauen einer Altersgruppe darstellen. In Abbildung 29 sind dagegen beide Kulturgruppen direkt gegenübergestellt.

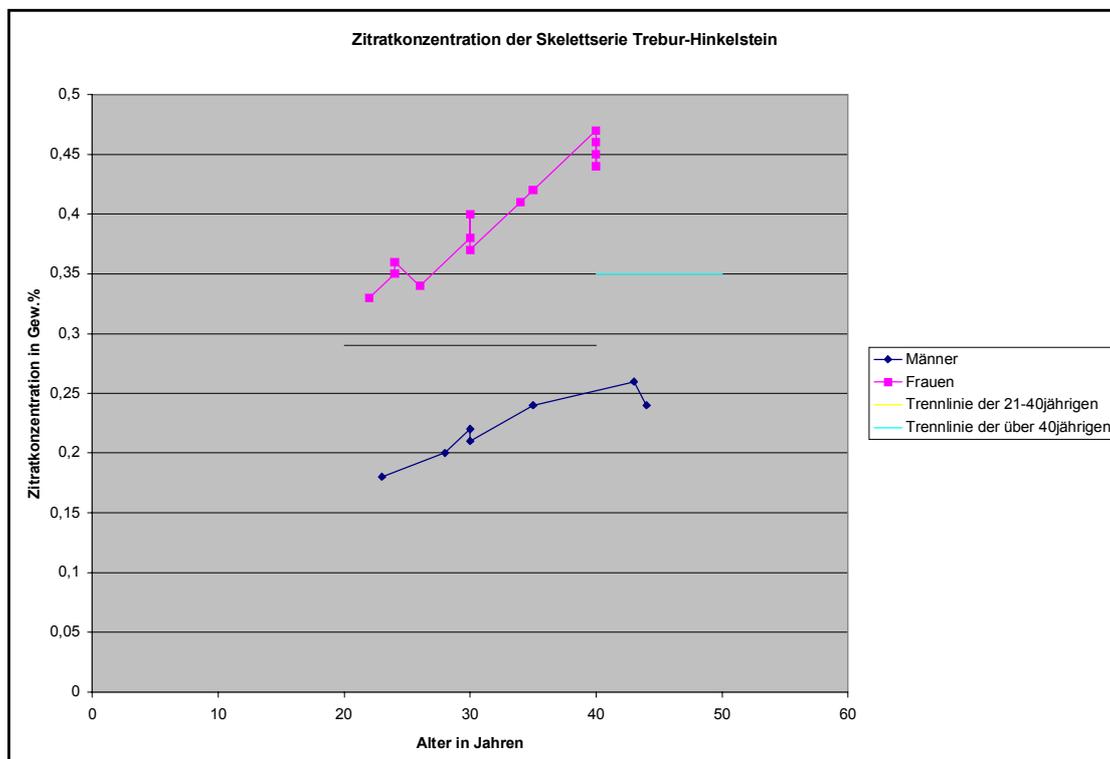


Abbildung 27: Zitratkonzentration des Knochenmaterials der Skelettserie Trebur-Hinkelstein in Abhängigkeit von Lebensalter und Geschlecht

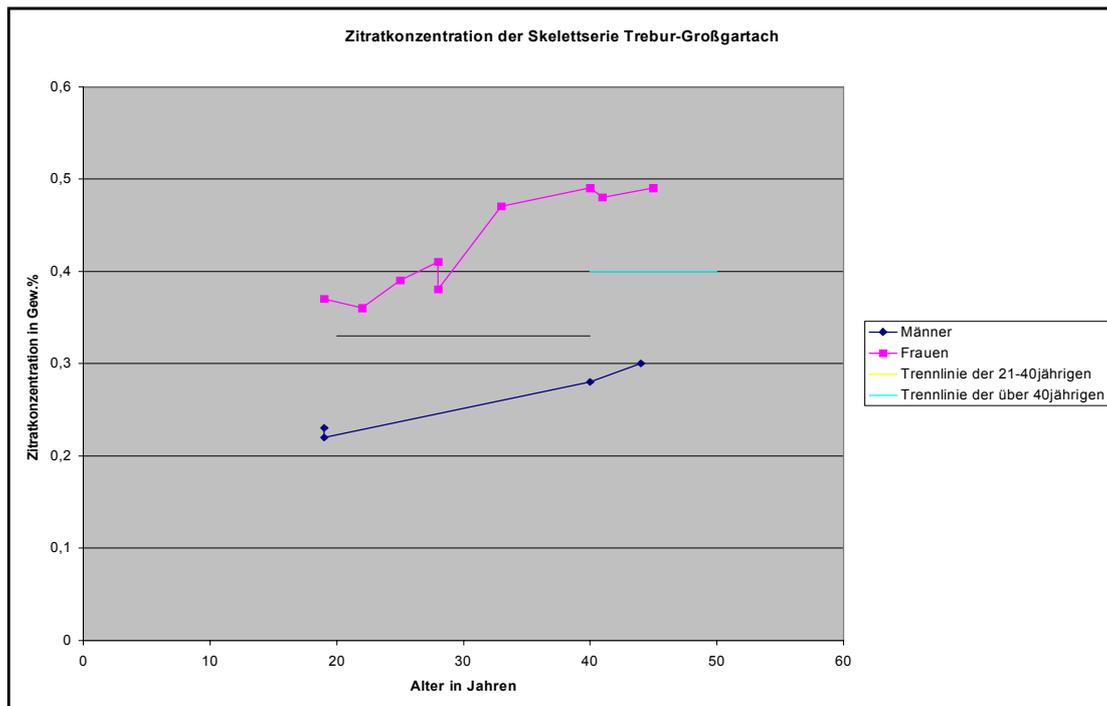


Abbildung 28: Zitratkonzentration des Knochenmaterials der Skelettserie Trebur-Großgartach in Abhängigkeit von Lebensalter und Geschlecht

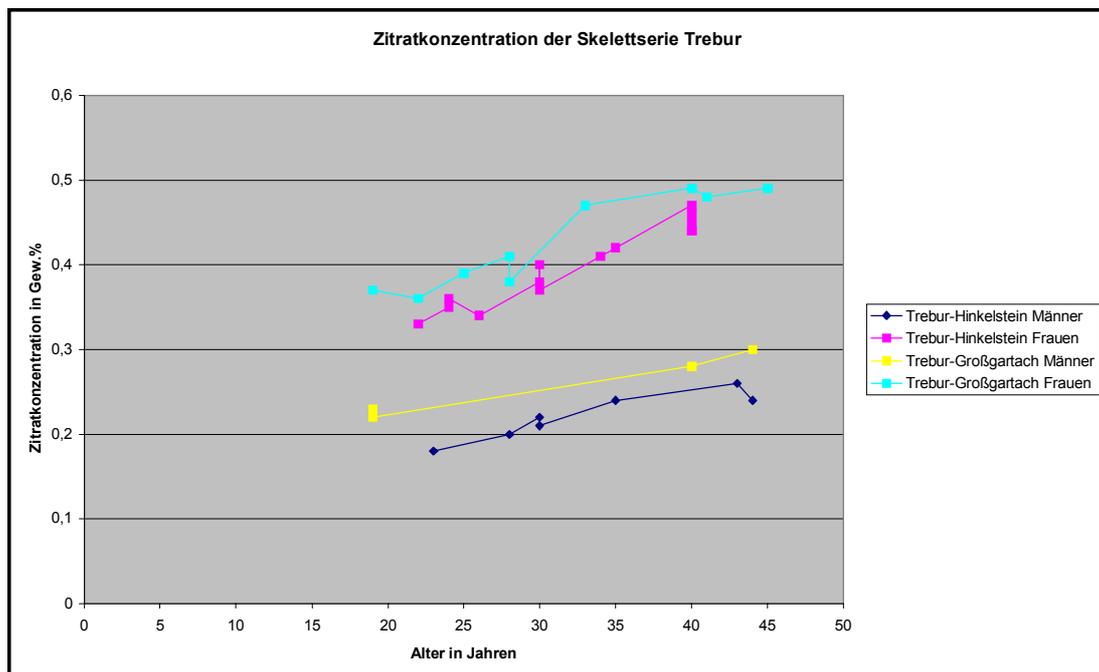


Abbildung 29: Zitratkonzentration des Knochenmaterials der Skelettserie Trebur in Abhängigkeit von Lebensalter und Geschlecht. Vergleich der beiden Kulturgruppen.

In Tabelle 11 sind die prozentualen Fehler, die bei der Geschlechtsbestimmung aller Skelettserien und der Leichenbrandserie gemacht wurden, zusammengefaßt. Es wird dabei grundsätzlich davon ausgegangen, daß die morphometrische Geschlechtsbestimmung korrekt ist (mit Ausnahme von Skelettindividuum Nr. 52 der Serie Grödig).

Bei den Skelettindividuen, die mit der morphometrischen Methode nicht zu bestimmen waren, kann nicht beurteilt werden, ob das Ergebnis der Zitratmethode korrekt ist.

Zusammenfassung der fehlerhaften Geschlechtsbestimmung aller Untersuchungsgruppen				
Untersuchungsgruppe	Anzahl getesteter Proben	Anzahl n.b. Individ.	Anzahl fehlbestimmter Individ.	Proz. Fehler
Grödig	68	-	4	5,9%
Pleidelsheim	48	2	-	4,2%
Kamid el-Loz	50	2	1	6%
Münster-Gittrup	25	-	-	-
Trebur	Hinkelstein	21	-	-
	Großgartach	13	-	-
Summe	225	4	5	4%

Tabelle 11: Bestimmungssicherheit der Zitratmethode bei Knochenmaterial aus historischen Skelettserien (n.b. = nicht bestimmbar, Individ. = Individuen, Proz. = prozentual)

Mit 4% liegt der Fehler bei historischem Knochenmaterial nicht signifikant höher als bei frischem Knochenmaterial aus Obduktionen und Operationen von 3,7% (vgl. Kapitel 3.2).

### 3.8 Vergleich aller Untersuchungsgruppen

Alle bisher beschriebenen Skelettserien wurden in den Vergleich einbezogen (Untersuchungsgruppe Obduktionen/Operationen nur mit den Ergebnissen der Zitratmethode nach BOEHRINGER MANNHEIM 1994; Serie Grödig nur mit den Ergebnissen der Lendenwirbelkörperspongiosa).

In Tabelle 4 sowie der Abbildung 21 in Kapitel 3.2 finden sich die Ergebnisse des frischen Knochenmaterials aus Obduktionen und Operationen

Die Ergebnisse der Skelettserie Grödig sind in der Tabelle 5 sowie den Abbildungen 22 und 23 in Kapitel 3.3 dargestellt.

Die Ergebnisse der Skelettserie Pleidelsheim finden sich in der Tabelle 6 und der Abbildung 24 in Kapitel 3.4.

In Tabelle 8 und Abbildung 25 in Kapitel 3.5 sind die Ergebnisse der Skelettserie Kamid el-Loz dargestellt.

In Tabelle 9 und Abbildung 26 in Kapitel 3.6 finden sich die Ergebnisse der Leichenbrandserie Münster-Gittrup.

Die Ergebnisse der beiden Kulturgruppen der Skelettserie Trebur sind in der Tabelle 10 und den Abbildungen 27 und 28 in Kapitel 3.6 dargestellt.

Tabelle 12 faßt die Mittelwerte der einzelnen Untersuchungsgruppen getrennt nach Altersgruppen und Geschlecht zusammen.

Vergleich der Ergebnisse der verschiedenen Untersuchungsgruppen														
Alter	Obdukt./ Operation		Grödig		Pleidelsheim		Kamid el-Loz		Münster-Gittrup		Trebur			
											Hinkelstein		Großgartach	
	M	W	M	W	M	W	M	W	M	W	M	W	M	W
0-6					0,36	0,4	0,30	0,34						
6-12					0,35	0,4	0,32	0,35						
12-20	0,60	1,00			0,38	0,61	0,32	0,42		0,49				
21-30	0,59	1,10	0,47	0,77	0,41	0,64	0,32	0,58	0,23	0,53	0,20	0,36	0,23	0,38
31-40	0,70	1,20	0,82	0,96	0,45	0,77	0,34	0,65	0,28	0,54	0,24	0,44	0,28	0,48
41-50	0,80	1,20			0,56	0,78	0,46	0,67			0,25		0,30	0,49
51-60	1,00	1,20			0,65	0,79	0,63	0,68						
61-70	1,10	1,20			0,70	0,78	0,60							
71-80	1,15	1,20												

Tabelle 12: Mittelwerte der Zitratkonzentration der verschiedenen Untersuchungsgruppen (M = männlich, W = weiblich)

Abbildung 30 stellt diese Ergebnisse graphisch dar. Zu beachten ist, daß die Kurve ‚Münster-Gittrup Männer‘ nicht sichtbar ist, da ihre Werte exakt mit den Werten der Kurve ‚Trebur-Großgartach Frauen‘ in den Altersgruppe 21-30 und 31-40 übereinstimmen und sie dadurch überlagert wird.

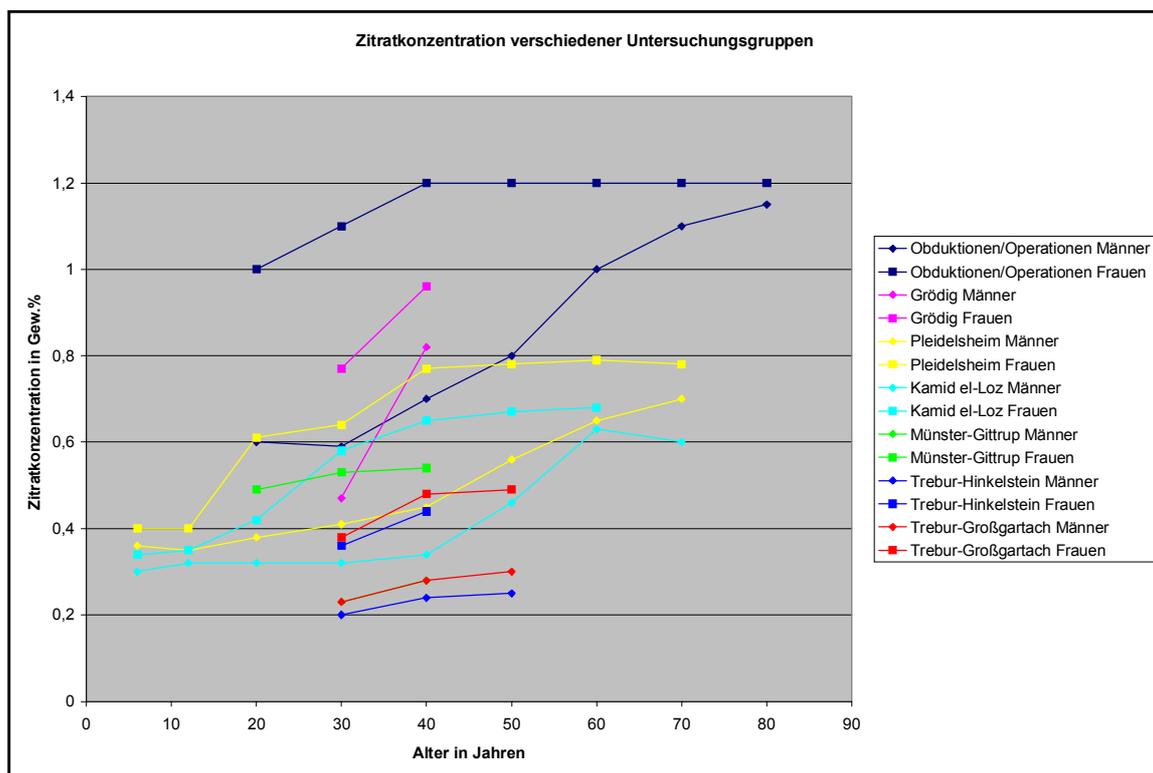


Abbildung 30: Mittelwerte der Zitratkonzentration der verschiedenen Untersuchungsgruppen in Abhängigkeit von Lebensalter und Geschlecht

In den Tabelle 13 bis 18 sind signifikante Unterschiede zwischen den Untersuchungsgruppen mit ‚s‘ gekennzeichnet. Jede Tabelle beinhaltet die signifikanten Unterschiede innerhalb einer Altersgruppe.

Signifikante Unterschiede zwischen den Untersuchungsgruppen Altersgruppe Infans I (0-6 Jahre)					
Untersuchungsgruppe		Pleidelsheim		Kamid el-Loz	
		M	W	M	W
Pleidelsheim	M	-	s	s	-
	W	s	-	-	s
Kamid el-Loz	M	s	-	-	s
	W	-	s	s	-

Tabelle 13: Signifikante Unterschiede zwischen den Untersuchungsgruppen (M = männlich, W = weiblich, s = signifikanter Unterschied)

Signifikante Unterschiede zwischen den Untersuchungsgruppen Altersgruppe Infans II (6-12 Jahre)					
Untersuchungsgruppe		Pleidelsheim		Kamid el-Loz	
		M	W	M	W
Pleidelsheim	M	-	s	s	-
	W	s	-	-	s
Kamid el-Loz	M	s	-	-	s
	W	-	s	s	-

Tabelle 14: Signifikante Unterschiede zwischen den Untersuchungsgruppen (M = männlich, W = weiblich, s = signifikanter Unterschied)

Signifikante Unterschiede zwischen den Untersuchungsgruppen Altersgruppe Juvenis (13-20Jahre)							
Untersuchungsgruppe		Obduktion/Operation		Pleidelsheim		Kamid el-Loz	
		M	W	M	W	M	W
Obduktion/ Operation	M	-	s	s	-	s	-
	W	s	-	-	s	-	s
Pleidelsheim	M	s	-	-	s	s	-
	W	-	s	s	-	-	s
Kamid el-Loz	M	s	-	s	-	-	s
	W	-	s	-	s	s	-

Tabelle 15: Signifikante Unterschiede zwischen den Untersuchungsgruppen (M = männlich, W = weiblich, s = signifikanter Unterschied)

Signifikante Unterschiede zwischen den Untersuchungsgruppen Altersgruppe Adult (21-40Jahre)															
Untersuchungs- gruppe		O/O		G		P		K		M-G		T-H		T-G	
		M	W	M	W	M	W	M	W	M	W	M	W	M	W
Obduktion/ Operation	M	-	s	s	-	s	-	s	-	s	-	s	-	s	-
	W	s	-	-	s	-	s	-	s	-	s	-	s	-	s
Grödig	M	s	-	-	s	s	-	s	-	s	-	s	-	s	-
	W	-	s	s	-	-	s	-	s	-	s	-	s	-	s
Pleidelsheim	M	s	-	s	-	-	s	s	-	s	-	s	-	s	-
	W	-	s	-	-	s	-	-	s	-	s	-	s	-	s
Kamid el-Loz	M	s	-	s	-	s	-	-	s	s	-	s	-	s	-
	W	-	s	-	s	-	s	s	-	-	s	-	s	-	s
Münster- Gittrup	M	s	-	s	-	s	-	s	-	-	s	-	-	-	-
	W	-	s	-	s	-	s	-	s	s	-	-	-	-	-
Trebur- Hinkelstein	M	s	-	s	-	s	-	s	-	-	-	-	s	-	-
	W	-	s	-	s	-	s	-	s	-	-	s	-	-	-
Trebur- Großgartach	M	s	-	s	-	s	-	s	-	-	-	-	-	-	s
	W	-	s	-	s	-	s	-	s	-	-	-	-	s	-

Tabelle 16: Signifikante Unterschiede zwischen den Untersuchungsgruppen (M = männlich, W = weiblich, s = signifikanter Unterschied, O/O = Obduktion/Operation, G = Grödig, P = Pleidelsheim, K = Kamid el-Loz, M-G = Münster-Gittrup, T-H = Trebur-Hinkelstein, T-G = Trebur-Großgartach)

Signifikante Unterschiede zwischen den Untersuchungsgruppen Altersgruppe Matur (41-60Jahre)									
Untersuchungs- gruppe		O/O		Pleidelsheim		Kamid el-Loz		T-Großgartach	
		M	W	M	W	M	W	M	W
Obduktion/ Operation	M	-	s	s	-	s	-	s	-
	W	s	-	-	s	-	s	-	s
Pleidelsheim	M	s	-	-	s	-	-	s	-
	W	-	s	s	-	-	s	-	s
Kamid el-Loz	M	s	-	-	-	-	s	s	-
	W	-	s	-	s	s	-	-	s
Trebur- Großgartach	M	s	-	s	-	s	-	-	s
	W	-	s	-	s	-	s	s	-

Tabelle 17: Signifikante Unterschiede zwischen den Untersuchungsgruppen (M = männlich, W = weiblich, s = signifikanter Unterschied, O/O = Obduktion/Operation, T = Trebur)

Signifikante Unterschiede zwischen den Untersuchungsgruppen Altersgruppe Senil (> 60 Jahre)					
Untersuchungsgruppe		Obduktion/Operation		Pleidelsheim	
		M	W	M	W
Obduktion/ Operation	M	-	s	s	-
	W	s	-	-	s
Pleidelsheim	M	s	-	-	s
	W	-	s	s	-

Tabelle 18: Signifikante Unterschiede zwischen den Untersuchungsgruppen (M = männlich, W = weiblich, s = signifikanter Unterschied)

## 4 Diskussion

### 4.1 Vergleich zweier Zitratmethoden

Literatur über eine unterschiedliche quantitative Erfassung des Zitratgehaltes bei Verwendung verschiedener Zitratmethoden lag nicht vor. Die Veröffentlichung von KISZELY (1974) stellt die Polarographie und die Gaschromatographie als zwei weitere Methoden zur Geschlechtsbestimmung vor, nennt aber nicht die mit diesen Methoden gewonnenen Ergebnisse.

Für die Polarographie nennt KISZELY (1974) einen Fehler von ca. 3% und eine reine Bestimmungszeit von ca. 1 Stunde pro Probe. Zeitaufwand und Fehler entsprechen also ungefähr denen der Methode nach HESS (1956; 3<sup>1</sup>/<sub>2</sub> Stunden für 4 Proben und ein Fehler von hier 5,6%), nur sind die benötigten Chemikalien und Geräte teurer.

Ein Gaschromatograph stand für die Durchführung dieser Arbeit nicht zur Verfügung und die Anschaffung eines solchen wäre sehr kostenaufwendig gewesen. Aus diesen Gründen wurde auf die Anwendung dieser beiden Methoden verzichtet.

Bisher wurde hauptsächlich die Methode nach HESS (1956) angewendet und alle Ergebnisse aus vorhergegangenen Untersuchungen beziehen sich auf diese Bestimmungsmethode. LENGYEL (1972) gibt einen Zitratgehalt von ca. 0,71 Gew.% für Männer und von ca. 1,11 Gew.% für Frauen bei frischem Knochenmaterial aus Sektionen an. Aus der entsprechenden Graphik geht hervor, daß diese Angaben für Männer und Frauen im Alter von ca. 20-40 Jahre gelten sollen. Angaben ob es sich hierbei um Mittelwerte handelt oder wie sich die Ergebnisse errechnen sind nicht angeführt.

Mit der enzymatischen Methode (BOEHRINGER MANNHEIM 1994) ist zuvor noch keine Geschlechtsbestimmung an Skelettmaterial durchgeführt worden. Es ist jedoch anzunehmen, daß sie im allgemeinen höhere Zitratkonzentrationen anzeigt als die Methode nach HESS (1956). Beide Methoden erfassen die Zitratkonzentration zwar quantitativ, aber nicht unbedingt vollständig. Auch kann bei der Methode nach HESS (1956) während der verschiedenen Überführungsschritte Pentabromazeton „verloren“ gehen.

Die mit der enzymatischen Methode nach BOEHRINGER MANNHEIM (1994) errechneten Zitratkonzentrationen bestätigen diese Vermutung. In allen Altersgruppen und bei beiden Geschlechtern liegen die ermittelten Zitratkonzentrationen über denen, die mit Hilfe der Methode nach HESS (1956) am gleichen Knochenmaterial gewonnen wurden. Allerdings ist dieser Unterschied in der quantitativen Erfassung des Zitratgehaltes nicht signifikant. Trotzdem sollte man bei Vergleichen zwischen verschiedenen Serien darauf achten, daß die Ergebnisse mit der gleichen Zitratmethode ermittelt wurden.

## 4.2 Bestimmungssicherheit der Zitratmethode bei frischem Knochenmaterial

In der vorhandenen Literatur, die sich mit der Untersuchung von frischem Knochenmaterial beschäftigte, sind keine Angaben über die Bestimmungssicherheit der Zitratmethode gemacht, wodurch die in dieser Arbeit erhaltenen Daten nicht mit denen anderer Autoren verglichen werden können.

Beim Vergleich der beiden Methoden nach HESS (1956) und nach BOEHRINGER MANNHEIM (1994) fällt auf, daß das Ergebnis der Fehlbestimmung bei der enzymatischen Methode (BOEHRINGER MANNHEIM 1994) mit 3,7% etwas unter dem Ergebnis bei der Methode nach HESS (1956) von 5,6% liegt. Dieser Unterschied ist allerdings nicht signifikant, außerdem entspricht er gerade einer einzigen fehlbestimmten Person mehr oder weniger.

Insgesamt ist anzunehmen, daß die Sicherheit der Methode bei frischem Knochenmaterial mit der bei historischem Skelettmaterial ermittelten Sicherheit übereinstimmen sollte, allenfalls etwas höher liegen könnte, da man Störfaktoren nicht ausschließen kann, die bei Bodenlagerung oder Verbrennung von Knochen auftreten.

Aus diesem Grunde, soll die Bestimmungssicherheit bei frischem Knochenmaterial in Kapitel 4.7.7 mit der Bestimmungssicherheit bei historischem Skelettmaterial mitdiskutiert werden.

## 4.3 Lokale Abhängigkeit der Zitratinlagerung

Literatur über Untersuchungen zu der unterschiedlichen Zitratinlagerung in verschiedene Körperregionen lag nicht vor, so daß sich die in dieser Arbeit gewonnenen Daten nicht mit anderen vergleichen lassen. Zwei Tendenzen sind allerdings bekannt: Im kortikalen Knochengewebe hängt der Zitratgehalt direkt von der Konzentration des Kalziums ab (0,7-1,3 Zitratmoleküle kommen auf 100 Kalziumatome). Der Zitratgehalt der Spongiosa ist unabhängiger von der Kalziumkonzentration und allgemein niedriger (KUYPER 1945).

Wie schon in Kapitel 3.3 geschrieben, lassen sich sowohl bei den Männern, als auch bei den Frauen keine signifikanten Unterschiede zwischen den 5 verschiedenen Skelettregionen nachweisen. Dies widerspricht nicht unbedingt der Aussage, daß der Zitratgehalt der Spongiosa allgemein niedriger sei. Die Untersuchung, die zur Annahme des geringeren Zitratgehaltes von Spongiosamaterial geführt hat, wurde an frischem Material aus Sektionen durchgeführt. Im Gegensatz dazu wurden die Untersuchungen zu dieser Arbeit an historischem Material, welches schon über 1000 Jahre im Erdboden gelagert hatte, vorgenommen. Berücksichtigt man weiterhin, daß das Spongiosamaterial der Wirbelkörper nicht wie das Knochenmaterial aus der Kompakta der Extremitäten in direktem Kontakt mit dem Erdreich gestanden hat, so ist denkbar, daß der durch die Bodenchemismen bedingte Zitratabbau während der Lagerung im Erdboden in der Wirbelkörperspongiosa langsamer abläuft als in der Kompakta der Extremitätenknochen. Daß dies allerdings für alle 19 untersuchten Skelettindividuen gleichermaßen gilt, ist eher unwahrscheinlich, da die Grabsituation bei den einzelnen Individuen recht unterschiedlich ausfallen kann.

Trotz großer Bemühungen war es bei dem frischen Knochenmaterial aus Obduktionen und Operationen leider nicht möglich, neben den Knochenproben aus der Lendenwirbelsäule auch Material aus der Kompakta der Extremitätenknochen zu erhalten. Bei den Proben, die von den Operationen stammen, versteht es sich von selbst, daß man lebenden Personen, die lediglich eine Bandscheibenoperation durchführen lassen wollen, nicht auch noch Knochensplitter aller vier Extremitäten entnehmen kann. Bei dem Knochenmaterial, welches aus der Pathologie, bzw. der Gerichtsmedizin stammt, war dies leider ebenfalls nicht möglich, da die eingeschaltete Ethikkommission des Fachbereichs Medizin lediglich der Entnahme aus der Wirbelsäule zustimmte, da diese üblicher Weise mit eröffnet und untersucht wird. Daher konnte bezüglich der lokalen Abhängigkeit der Zitratinlagerung keine Untersuchung an frischem Knochenmaterial durchgeführt werden.

An dem historischen Knochenmaterial der Skelettserie Grödig konnten weiterhin sowohl bei den Humeri als auch bei den Femora keine durchgängige Rechts-Links-Präferenz der Zitratinlagerung beobachtet werden. Unterschiede zwischen dem Zitratingehalt der Humeri und dem der Femora ließen sich ebenfalls nicht nachweisen.

Die Ergebnisse zeigen also keine lokale Abhängigkeit der Zitratingehaltung im Knochenmaterial verschiedener Skelettregionen.

#### **4.4 Zusammenhang zwischen Lebensalter und Zitratingehalt**

Die Abbildungen 1 und 3 in Kapitel 1.3 stellen die Ergebnisse zu dieser Fragestellung aus anderen Veröffentlichungen dar. Demnach steigt der Zitratingehalt bei Frauen im Alter zwischen 16 und 22 Jahren sprunghaft an, während er bei Männern erst im Alter von über 50 Jahren ansteigt und dann fast ebenso hohe Werte erreicht. Die Ursache für das Ansteigen des Zitratingehaltes ist bei beiden Geschlechtern eine Erhöhung des Östrogengehaltes.

Die Zitratingehaltungen der Kinder in der Skelettserie Pleidelsheim zeigen, daß sich in dieser Altersklasse keine signifikanten Unterschiede zwischen den Geschlechtern in Bezug auf den Zitratingehalt finden lassen. Trotzdem konnten höhere Zitratingehalte von niedrigeren Werten unterschieden werden. Ein direkter Vergleich der Daten mit denen der Literatur ist nur bedingt möglich, da bei der Serie keine anthropologische Geschlechtsbestimmung der Kinder und Jugendlichen vorlag.

Zur besseren Übersicht werden die Ergebnisse erst nach Altersklassen getrennt diskutiert, bevor sie zu einer Gesamtaussage zusammengefaßt werden.

##### **4.4.1 Infans I**

Die Geschlechtszugehörigkeit war bei sämtlichen 11 Individuen dieser Altersgruppe anthropologisch (morphometrisch) nicht bestimmbar. 3 Skelette waren archäologisch als männlich bestimmt worden, die restlichen 8 Skelettindividuen blieben unbestimmt. Es ist davon auszugehen, daß sowohl männliche als auch weibliche Kinder in dieser Gruppe vertreten sind. Die gemessenen Zitratingehaltungen schwanken zwischen 0,34 (Nr. 260) und 0,41 (Nr. 255) Gew.%. Die Schwankungsbreite ist also gering. Die drei archäologisch als männlich bestimmten Kinder zeigen alle eine Zitratingehaltung im unteren Schwankungsbereich. Davon ausgehend wurden die restlichen Kinder dieser Altersgruppe als männlich bzw. weiblich bestimmt, der Trennwert liegt bei 0,38 Gew.%. Ob diese Geschlechtsbestimmung korrekt ist, läßt sich nicht überprüfen. Insgesamt gibt es nur geringe Unterschiede zwischen den Geschlechtern der Altersstufe Infans I.

#### 4.4.2 Infans II

Bis auf ein unsicheres Individuum (Nr. 250 als w1 bestimmt), konnten 4 Skelettindividuen archäologisch als weiblich bestimmt werden, 2 Skelettindividuen blieben unbestimmt. Die gemessenen Zitratkonzentrationen der 7 Kinder schwanken zwischen 0,35 (Nr. 169) und 0,42 (Nr. 182) Gew.%. Damit liegen die Werte nur geringfügig über denen der Altersstufe Infans I. Offenbar gibt es auch hier nur geringe oder gar keine Unterschiede zwischen den Geschlechtern der Altersklasse Infans II in Bezug auf den Zitratgehalt. Trotzdem konnte festgestellt werden, daß alle 5 archäologisch, bzw. anthropologisch als weiblich bestimmte Individuen innerhalb der Schwankungsbreite der Altersstufe Infans II Werte zwischen 0,38 und 0,42 Gew.% aufwiesen. Die einzige Probe die einen niedrigeren Wert aufwies (0,35 Gew.%) wurde demnach als männlich bestimmt. Das verbleibende Kind mit einer Zitratkonzentration von 0,41 Gew.% wurde als weiblich bestimmt. Ausgehend von dem berechneten Trennwert zwischen den Geschlechtern der Altersstufe Infans II konnte ein Skelettindividuum (archäologisch als weiblich bestimmt) mit der Zitratmethode nicht bestimmt werden. Ob die mit Hilfe der Zitratmethode vorgenommenen Geschlechtsbestimmungen der Individuen der Altersstufe Infans II richtig sind, kann nicht überprüft werden.

#### 4.4.3 Juvenis

Von den insgesamt 5 juvenilen Individuen waren zwei archäologisch als männlich und eines anthropologisch mit w1 bestimmt worden. Zwei weitere Skelettindividuen blieben unbestimmt. Die gemessenen Zitratkonzentrationen der 5 Jugendlichen schwanken zwischen 0,36 (Nr. 199) und 0,63 (Nr. 253) Gew.%. Der niedrigste Wert entspricht damit denen der Altersgruppen Infans I und II, der höchste Wert dagegen liegt signifikant darüber. Auffallend ist, daß die drei niedrigen Werte (0,36-0,39 Gew.%) von den drei archäologisch als männlich bestimmten Jugendlichen stammen, der höhere Wert von 0,58 Gew.% dagegen von dem mit w1 bestimmten Skelett. Demzufolge wurde das verbleibende Individuum mit einem Zitratwert von 0,63 Gew.% als weiblich bestimmt. Ob diese Bestimmung korrekt ist, kann ebenfalls nicht überprüft werden. Allerdings zeigen die auf diesen Bestimmungen beruhenden statistischen Daten einen signifikanten Unterschied zwischen den Geschlechtern der Altersklasse Juvenis (vgl. Tab. 7 in Kapitel 3.4).

#### 4.4.4 Adult

Insgesamt 5 als m3 bestimmten Skelettindividuen stehen 6 als w3 bestimmte Skelette gegenüber. Der Vergleich der statistischen Daten ergab signifikante Unterschiede zwischen den Geschlechtern der Altersklasse Adult in Bezug auf den Zitratgehalt (vgl. Tab. 7 in Kapitel 3.4). Die Werte der Männer liegen etwas über denen der männlichen Individuen der Altersgruppen Infans I, Infans II und Juvenis, die der Frauen liegen sogar deutlich und statistisch signifikant über denen der als weiblich bestimmten Kindern und Jugendlichen.

#### 4.4.5 Matur

Von insgesamt 10 Skelettindividuen waren 4 als m3 und 6 als w3 bestimmt. Signifikante Unterschiede zwischen den Geschlechtern in der Altersklasse Matur in Bezug auf den Zitratgehalt ließen sich feststellen (vgl. Tab. 7 in Kapitel 3.4). Die Zitratmethode kann somit zur Geschlechtsbestimmung an Individuen der Altersstufe Matur herangezogen werden. Die ermittelten Werte der Frauen liegen statistisch signifikant über denen der weiblichen Individuen der Altersgruppen Infans I, Infans II und Juvenis, aber nicht über denen der Frauen der Altersgruppe Adult. Die ermittelten Werte der Männer liegen dagegen signifikant über denen der Männer der Altersgruppen Infans I, Infans II, Juvenis und Adult. Diese Ergebnisse stimmen mit dem in der Literatur angegebenen sprunghaften Anstieg des Zitratgehaltes bei Männern im Alter von etwa 50-60 Jahren überein.

#### 4.4.6 Senil

In der Altersgruppe Senil stehen 4 als w3 bestimmten Skelettindividuen nur eines als m3 bestimmtes Skelett gegenüber. Ein statistischer Vergleich der Zitratkonzentrationen zwischen den Geschlechtern innerhalb der Altersklasse Senil konnte daher nicht durchgeführt werden. Es fällt aber auf, daß die Knochenprobe des männlichen Individuums einen deutlich niedrigeren Zitratwert (0,7 Gew.%) aufwies, als die Frauen der gleichen Altersstufe (0,76-0,80 Gew.%). Ein statistischer Vergleich des Zitratwertes des einzigen Mannes der Altersgruppe Senil mit denen der Männer anderer Altersgruppen konnte ebenfalls nicht gezogen werden. Die Frauen zeigen sich dagegen signifikant unterschiedlich zu den weiblich bestimmten Individuen der Altersstufen Infans I, Infans II und Juvenis, nicht jedoch gegenüber den Frauen der Altersstufen Adult und Matur (vgl. Tab. 7 in Kapitel 3.4).

#### 4.4.7 Gesamtbeurteilung

Der Vergleich der statistischen Daten der einzelnen Altersgruppen (jeweils getrennt nach den Geschlechtern) zeigt signifikante Unterschiede bei den Männern zwischen den Altersgruppen Infans I, Infans II, Juvenis sowie Adult auf der einen Seite und der Altersstufe Matur auf der anderen Seite. Bei den Frauen findet sich ein signifikanter Unterschied zwischen den Altersgruppen Infans I und Infans II auf der einen und den Altersgruppen Adult, Matur sowie Senil auf der anderen Seite. Die Frauen der Altersklasse Juvenis sind zu jeder anderen Altersklasse signifikant unterschiedlich. Diese Ergebnisse stimmen mit der Literatur überein, in der ein sprunghaftes Ansteigen des Zitratgehaltes bei Frauen im Alter von etwa 15-20 Jahren und bei Männern im Alter von etwa 50-60 Jahren angegeben wird (LENGYEL 1972).

Innerhalb der Altersklassen Infans I und Infans II lassen sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Geschlechtern feststellen. Innerhalb der Altersklassen Adult und Matur zeigen die Zitratkonzentrationen zwischen Männern und Frauen signifikante Unterschiede. Die Altersklasse Senil kann nicht beurteilt werden. Vergleiche mit den Ergebnissen an frischem Knochenmaterial aus Obduktionen und Operationen lassen allerdings die Vermutung zu, daß ab einem Alter von etwa 70 Jahren kein signifikanter Unterschied mehr zwischen den Geschlechtern in Bezug auf den Zitratgehalt besteht (vgl. Tab. 3 in Kapitel 3.1).

#### 4.5 Geschlechtsbestimmung einer kompletten Skelettserie

LENGYEL (1968, 1972) untersuchte komplette historische Skelettserien und verglich deren Ergebnisse mit denen von frischem Knochenmaterial aus dem Seziersaal (vgl. Abb. 1 und 3 in Kapitel 1.3). Leider gibt er nicht die ermittelten Einzelwerte an. Die Mittelwerte, aus den o.a. Abbildungen abgelesen, werden den in dieser Arbeit errechneten Mittelwerten des Zitratgehaltes der Skelettserie Kamid el-Loz und dem frischen Knochenmaterial aus Obduktionen und Operationen gegenübergestellt werden.

Vergleich in der Arbeit gewonnener Daten mit denen der Literatur														
Alter	Obduktion/ Operation		Kamid el-Loz		LENGYEL (1968, 1972)									
					Abb. 1 (1968)						Abb. 3 (1972)			
					Sect. room		Roman period		Copper Age		Sezier- saal		VI. Jh.	
					M	W	M	W	M	W	M	W	M	W
0-6			0,30	0,34	0,95		0,46		0,38		0,5	0,51	0,38	0,40
7-12			0,32	0,35	0,95		0,46		0,38		0,51	0,53	0,39	0,41
13-20	0,60	1,00	0,32	0,42	0,93	0,96	0,48	0,54	0,37	0,53	0,53	0,85	0,40	0,50
21-30	0,59	1,10	0,32	0,58	0,95	1,01	0,52	0,66	0,42	0,57	0,55	0,94	0,45	0,65
31-40	0,70	1,20	0,34	0,65							0,63	0,98	0,47	0,71
41-50	0,80	1,20	0,46	0,67	0,96	1,04	0,55	0,68	0,44	0,58	0,67	0,99	0,51	0,72
51-60	1,00	1,20	0,63	0,68							0,82	0,99	0,62	0,71
61-70	1,10	1,20	0,60		0,99	1,03	0,67	0,72	0,52	0,62	0,92	0,99	0,70	0,71
> 70	1,15	1,20									0,95	0,99	0,70	0,71

Tabelle 19: Vergleich in der Arbeit gewonnener Daten mit denen der Literatur (Sect. Room = Section-room material, M = männlich, W = weiblich)

Ein Vergleich des frischen Knochenmaterials zeigt, daß die in dieser Arbeit ermittelten Zitratwerte über denen von LENGYEL (1968, 1972) liegen. Dies kann daran liegen, daß die Daten von LENGYEL (1968, 1972) mit der Bestimmungsmethode nach HESS (1956) ermittelt wurden. Statistische Vergleiche konnten nicht durchgeführt werden, da die Einzelwerte von LENGYEL (1968, 1972) nicht vorlagen.

Ein Vergleich des Knochenmaterials von Kamid el-Loz dagegen zeigt ähnliche Werte wie die 3 historischen Serien LENGYELs (1968, 1972).

Die gewonnenen Daten aus frischem Knochenmaterial der weiblichen Wirbelkörper in den verschiedenen Altersgruppen setzte LENGYEL (1972) jeweils gleich 100%, die entsprechenden Prozentsätze der männlichen Wirbelkörper waren somit geringer. Entsprechendes wurde mit den Daten des frischen Knochenmaterials aus Obduktionen und Operationen sowie den Ergebnissen der Skelettserie Kamid el-Loz vorgenommen. Die Ergebnisse werden gegenübergestellt.

LENGYEL (1972) fand damit heraus, daß der prozentuale Zitratgehalt der Wirbelkörper eines Mannes im Alter von

0- 5 Jahre	um	4,94%
6-10 Jahre	um	3,40%
11-15 Jahre	um	30,54%
16-20 Jahre	um	28,32%
21-30 Jahre	um	33,30%
31-40 Jahre	um	30,92%
41-50 Jahre	um	30,50%
51-60 Jahre	um	20,46%
61-70 Jahre	um	17,19%
71- X Jahre	um	4,32%

geringer ist als bei Frauen der gleichen Altersgruppe.

Für die Untersuchungsgruppen dieser Arbeit gilt, daß der prozentuale Zitratgehalt eines Mannes im Alter von

0- 6 Jahre	um	11,8% (Kamid el-Loz)	
7-12 Jahre	um	8,6%	
13-20 Jahre	um	23,8%	bzw. um 40,0% (Obduktionen & Operationen)
21-30 Jahre	um	44,8%	46,4%
31-40 Jahre	um	47,7%	41,6%
41-50 Jahre	um	31,3%	33,3%
51-60 Jahre	um	7,4%	16,7%
61-70 Jahre	um		8,3%
71- X Jahre	um		4,2%

geringer ist als bei Frauen der gleichen Altersgruppe. Es ist allerdings anzunehmen, daß diese prozentualen Unterschiede zwischen den Zitratkonzentrationen von Männern und Frauen individuell für die verschiedenen Untersuchungsgruppen sind. Die Ergebnisse zeigen aber in welchen Altersklassen die Geschlechtsbestimmung mit der größten Sicherheit auszuführen sind (hier 15-50 Jahre).

Weiterhin muß festgestellt werden, daß mit der Zitratmethode auch die anthropologisch nicht bestimmbar (n.b.) bzw. nur mit Einschränkungen bestimmbar Skelettindividuen ( $m_2/w_2$ ,  $m_1/w_1$ ) mit der Zitratmethode einem Geschlecht zugeordnet werden konnten. Lediglich ein Kind der Altersgruppe Infans I und ein Jugendlicher konnten aufgrund des jeweiligen Trennwertes zwischen den Geschlechtern nicht bestimmt werden. Ein anthropologisch mit  $m_3$  bestimmter Mann (Alter 50-70 Jahre) wurde mit der Zitratmethode als weiblich bestimmt. Hier ist anzumerken, daß kein Trennwert für über 60jährige berechnet werden konnte, da keine Frauen in dieser Altersgruppe der Untersuchung zur Verfügung standen. Nach dem Trennwert der 41-60jährigen entspricht die Zitratkonzentration der einer Frau. Insgesamt konnten dagegen 9 vorher nicht bestimmbar, 3 mit ..1 und 7 mit ..2 bestimmte Skelettindividuen mit der Zitratmethode geschlechtsbestimmt werden. Die Zitratmethode eignet sich daher auch als eine zusätzliche Methode zur Geschlechtsbestimmung, um fragliche Bestimmungen abzusichern.

#### 4.6 Anwendbarkeit der Zitratmethode auf Leichenbrände

Eine Untersuchung an Leichenbränden ist bisher nicht durchgeführt worden, so daß sich die in dieser Arbeit gewonnenen Daten nicht mit anderen vergleichen lassen.

Die Ergebnisse zeigen, daß sich die Zitratmethode durchaus auch auf Leichenbrände anwenden läßt. Es liegen signifikante Unterschiede zwischen den Geschlechtern der Leichenbrandserie vor.

Die Vorgehensweise unterscheidet sich nicht von der an Skelettserien oder an frischem Knochenmaterial angewendeten Methode. Bei der Probenentnahme sollte allerdings darauf geachtet werden, möglichst gering verbrannte Proben zu erhalten. Die Knochenfragmente der einzelnen Individuen sollten möglichst im gleichen Grade verbrannt sein, da bei der Verbrennung von Knochenmaterial auch das darin vorhandene Zitrat zerstört wird. Ein stark verbranntes Stück Knochen einer Frau könnte also einen niedrigeren Zitratgehalt besitzen als ein kaum verbranntes Knochenstück eines männlichen Individuums.

#### 4.7 Bestimmungssicherheit der Methode bei historischem Skelettmaterial

DENNISON (1979) gibt die Bestimmungssicherheit der Methode nach HESS (1956) mit 89,1% an. Die in die Berechnung eingegangenen Werte, die zu diesem Ergebnis führten, sind aber individuell für die von ihm verwendete Serie.

##### 4.7.1 Grödig

Eine einzelne Skelettregion eines Individuums lieferte in einigen Fällen eine falsche Geschlechtsdiagnose. Da die übrigen 4 Skelettregionen ein mit der anthropologischen Geschlechtsbestimmung übereinstimmendes Ergebnis zeigten, liegen in diesen Fällen Fehlbestimmungen vor. Gründe dafür können sein:

- a) Das entsprechende Knochenfragment wurde einem Skeletteil entnommen, welches nicht zu diesem Skelett gehörte.
- b) Knochenproben wurden nach der Entnahme vertauscht.
- c) Trotz der Mitführung von Leerwerten ist es möglich, daß einzelne Proben fehlerhafte Ergebnisse liefern (unsauberes Arbeiten, alte Chemikalien, Luftbläschen im Lichtgang u.ä.).

Zu Punkt a) ist zu sagen, daß die Skelettindividuen der Serie Grödig sich zwar in separaten Tüten, jedoch größtenteils zu mehreren in einer Kiste befinden. Da mehrere Personen an diesen Skeletten arbeiteten, aber auch Tüten zum Zeitpunkt der Probenentnahme zerrissen gewesen sein können, läßt sich eine Vermischung der Skeletteile mit denen anderer Individuen derselben Kiste nicht völlig ausschließen.

Eine Vertauschung der Knochenproben nach der Entnahme halte ich dagegen für ausgeschlossen. Die Proben wurden sofort nach ihrer Entnahme separat verpackt und mit einem verschlüsselten Code gekennzeichnet, der keine Auskunft über das Geschlecht zuließ. Auch waren die Proben anderen Personen nicht zugänglich.

Die unter Punkt c) angeführte Hypothese veranlaßte DENNISON (1979), jede Knochenprobe zweimal (mit der Methode nach HESS 1956) zu bestimmen. Dabei zeigte sich, daß die gleiche Probe trotz der Mitführung der 4 Standards, verschiedene Zitratkonzentrationen lieferte. Trotzdem wurde in dieser Arbeit auf eine zweite Geschlechtsbestimmung der fehlbestimmten Skelettregionen mit der Zitratmethode verzichtet. Sollte diese Methode an einer bisher unbestimmten Skelettserie angewendet werden, könnte man ebenfalls keine Zweitbestimmung durchführen, da eine Fehlbestimmung nicht erkannt würde. Sollte man dennoch alle Knochenproben grundsätzlich doppeltbestimmen, eventuell vorkommende Proben, die unterschiedliche Werte liefern, sogar ein drittes Mal bestimmen, betrüge die Sicherheit der Methode annähernd 100%. Der zusätzliche Zeit und Kostenaufwand wäre allerdings kaum gerechtfertigt.

Skelett Nr. 52, anthropologisch als Mann bestimmt, liefert bei allen 5 getesteten Skelettregionen einen hohen Zitratgehalt, der es als Frau bestimmt. Bei einer Übereinstimmung aller 5 Skelettregionen können die oben angeführten Gründe nicht die Ursache sein, die zu diesen Ergebnissen geführt hat. An dieser Stelle sei noch einmal darauf hingewiesen, daß mit der Zitratmethode immer nur der hormonelle Zustand des Individuums zum Zeitpunkt seines Todes festgestellt werden kann. Die anthropologische Geschlechtsbestimmung, wie in Kapitel 1.2 beschrieben, basiert dagegen auf einer morphometrischen Betrachtung der knöchernen Überreste. Diese „Geschlechtmarker“ hängen nur zum Teil vom Hormonhaushalt ab. Körperliche Belastungen, schweres Arbeiten u.ä. zeigen sich z.B. an stärker ausgeprägten Muskelansatzstellen. Aber auch der hormonelle Zustand unterliegt beeinflussenden Faktoren. So können Leberschäden zu einer verringerten Bildung von androgenen Hormonen führen. Dadurch aber steigt der Zitratgehalt des Knochens an. Ebenso ist bekannt, daß einige Tumore Östrogen produzieren und absondern, was ebenfalls zu einer erhöhten Zitratinlagerung in den Knochen führen kann. Natürlich ist weiterhin zu beachten, daß die Untersuchungsgruppen normalverteilt sind und daher auch Individuen aus dem überlappendem Bereich (vgl. Abbildung 16 in Kapitel 2.2.1.7) beinhalten können.

So liegt die Bestimmungssicherheit der Zitratmethode bei der Skelettserie Grödig bei insgesamt 94,1%, wenn man davon ausgeht, daß Skelett Nr. 52 mit der Zitratmethode richtig als Frau bestimmt wurde. Betrachtet man nur die Ergebnisse der Lumbalwirbel, beträgt die Bestimmungssicherheit 100%.

#### **4.7.2 Pleidelsheim**

Die Bestimmungssicherheit der Zitratmethode beträgt bei der Skelettserie Pleidelsheim insgesamt 95,8%. Betrachtet man nur die Altersgruppen Juvenis, Adult und Matur, beträgt die Bestimmungssicherheit 100%.

Die Gründe, die zu Fehlbestimmungen führen können, sind Kapitel 4.7.1 zu entnehmen.

#### **4.7.3 Kamid el-Loz**

Die Bestimmungssicherheit der Zitratmethode beträgt bei der Skelettserie Kamid el-Loz 94%. Betrachtet man nur die Altersgruppen Adult und Matur, beträgt die Bestimmungssicherheit 98%. Die Ursachen, die zu Fehlern führen können, beschreibt Kapitel 4.7.1.

#### **4.7.4 Münster-Gittrup**

Die Bestimmungssicherheit der Zitratmethode bei der Leichenbrandserie Münster-Gittrup beträgt 100%. Kein einziges Skelett wurde fehlbestimmt. Statistisch gesehen wurden keine Individuen aus den überlappenden Bereichen der Normalverteilungskurven getestet (vgl. Abb. 16 in Kapitel 2.2.1.7). Zu den bereits in Kapitel 4.7.1 genannten Gründen, die zu Fehlbestimmungen führen können, muß der in Kapitel 4.6 genannte Aspekt der Knochenauswahl berücksichtigt werden, da er zu einem erhöhten Fehler führen könnte.

#### **4.7.5 Trebur-Hinkelstein**

Die Bestimmungssicherheit der Zitratmethode beträgt bei der Skelettserie Trebur-Hinkelstein 100%. Es wurden alle Skelettindividuen korrekt bestimmt.

#### **4.7.6 Trebur-Großgartach**

Die Bestimmungssicherheit der Zitratmethode beträgt bei der Kulturgruppe Großgartach der Skelettserie Trebur 100%. Kein Skelett wurde fehlbestimmt.

#### **4.7.7 Frisches Knochenmaterial aus Obduktionen und Operationen**

Wie schon in Kapitel 4.2 beschrieben beträgt die Bestimmungssicherheit bei der Untersuchungsgruppe aus Obduktionen und Operationen bei der Methode nach HESS (1956) 94,4%. Betrachtet man nur die Altersgruppen Juvenil, Adult und Matur, beträgt die Bestimmungssicherheit 98,1%. Bei der Methode nach BOEHRINGER MANNHEIM (1994) beträgt die Bestimmungssicherheit 96,3%. Betrachtet man ebenfalls nur die Altersgruppen Juvenis, Matur und Senil beträgt die Bestimmungssicherheit 100%.

Prinzipiell gelten die in Kapitel 4.7.1 genannten Gründe, die zu Fehlbestimmungen führen können, auch für das frische Knochenmaterial. Allerdings ist logischerweise auszuschließen, daß das entsprechende Knochenfragment einem Skeletteil entnommen wurde, welches nicht zu diesem Skelett gehörte. Insbesondere bei den Knochenproben, welche von den Operationen stammen, ist ein späteres Vertauschen zumindest möglich, da sie durch viele Hände gegangen sind.

#### **4.7.8 Gesamtbeurteilung**

Die Bestimmungssicherheiten innerhalb der einzelnen Untersuchungsgruppen liegen immer über 90% und übertreffen die von DENNISON (1979) ermittelte Bestimmungssicherheit der Zitratmethode nach HESS (1956) von 89,1%.

### **4.8 Vergleich aller Untersuchungsgruppen**

Die Untersuchungen an historischem Skelettmaterial aus der frühen Bronzezeit zeigten, daß der prozentuale Zitratgehalt männlicher Knochen um 0,315 Gew.% (57,43%) und der weiblicher Knochen um 0,426 Gew.% (56,31%) niedriger liegt als der Zitratgehalt aus frischem, anatomischem Material aus dem Sezierraum. Der Grund dafür ist die Dekomposition des Knochens (LENGYEL & FARKAS 1972). Leider ist nicht angegeben, auf welche Altersgruppen sich diese Ergebnisse beziehen oder, ob, was wahrscheinlich ist, Mittelwerte über alle Altersstufen gebildet wurden, die dann verglichen wurden.

In dieser Arbeit wurden die einzelnen Untersuchungsgruppen untereinander auf Gemeinsamkeiten bzw. signifikante Unterschiede geprüft.

Die Ergebnisse zeigen generell signifikante Unterschiede zwischen den Untersuchungsgruppen, mit Ausnahme der Serie Münster-Gittrup (nur Männer), Trebur-Hinkelstein und Trebur-Großgartach.

Das Alter, die geographische Lage und die errechneten Mittelwerte für Männer und Frauen der Altersklasse Adult (nur in dieser Altersstufe sind alle Untersuchungsgruppen vertreten) dieser Gruppen sind:

Frisches Material	2.Jt.n.Chr.	Deutschland	0,52%	1,04%
Grödig	6./7.Jh.n.Chr.	Österreich	0,56%	0,86%
Pleidelsheim	5.-7.Jh.n.Chr.	Deutschland	0,42%	0,77%
Kamid el-Loz	5./4.Jh.n.Chr.	Libanon	0,33%	0,58%
Münster-Gittrup	ca. 1Jt.v.Chr.	Deutschland	0,26%	0,53%
Trebur-Hinkelstein	5.Jt.v.Chr.	Deutschland	0,21%	0,40%
Trebur-Großgartach	5.Jt.v.Chr.	Deutschland	0,24%	0,42%

Wie erwartet zeigt das frische Knochenmaterial die höchsten Zitratwerte. Grödig und Pleidelsheim sind zeitlich benachbarte Serien. Das trotzdem ein signifikanter Unterschied im Zitratgehalt der Knochen zu finden ist, liegt möglicherweise an unterschiedlicher Bodenbeschaffenheit. So ist bekannt, daß sich die Gesamtsumme der organischen und anorganischen Stoffe, also auch das Zitrat, vermindert, und zwar in linearem Verhältnis mit der seit dem Begräbnis vergangenen Zeit. Sie hängt aber außerdem auch von den Bodenverhältnissen und den klimatischen Bedingungen ab (OAKLEY 1956; COOK 1959). Die Bodenverhältnisse, die zum unterschiedlich schnellen Zitratabbau aus dem Knochenmaterial führen, sind nicht nur bei zwei Skelettserien verschieden, sondern können auch innerhalb einer Skelettserie für zwei verschiedenen Individuen unterschiedlich sein.

Die klimatischen Bedingungen und die Bodenbeschaffenheit spielen bei der Skelettserie Kamid el-Loz wohl ebenso eine Rolle. Diese vorderasiatische Skelettserie ist weder räumlich noch zeitlich mit einer der anderen Untersuchungsgruppen zu vergleichen und zeigt dementsprechend signifikante Unterschiede zu allen anderen Serien (Ausnahme Männer der Altersklasse Matur zu gleichaltrigen Männern der Serie Pleidelsheim). Insgesamt ähneln die Ergebnisse am ehesten der Leichenbrandserie Münster-Gittrup, die allerdings gut 500 Jahre älter ist.

Die Männer der Leichenbrandserie Münster-Gittrup zeigen keine signifikant unterschiedlichen Zitratwerte zu den Werten der Männer der beiden Kulturgruppen Hinkelstein und Großgartach der Skelettserie Trebur. Der Zitratgehalt des Knochenmaterials von Münster-Gittrup unterliegt aber zusätzlich zu den schon genannten Faktoren Bodenbeschaffenheit und Klima noch einem weiteren, der Verbrennung. Dadurch ist die Serie nicht mit den anderen zu vergleichen. Die ähnlichen Werte der Zitratkonzentration bei den Männern müssen, obwohl keine signifikanten Unterschiede zu Trebur berechnet werden konnten, als rein zufällig angesehen werden. Die deutlich höheren Werte der Frauen von Münster-Gittrup gegenüber der Frauen von Trebur, scheinen dies zu bestätigen.

Trebur ist eine sehr alte Serie. Ihr Zitratgehalt ist im Vergleich zu den anderen Untersuchungsgruppen signifikant geringer (mit Ausnahme der Männer der Leichenbrandserie Münster-Gittrup). Dieses Ergebnis war zu erwarten gewesen. Die Unterteilung der Serie in die beiden Kulturgruppen Hinkelstein und Großgartach wäre für die Geschlechtsbestimmung mit der Zitratmethode nicht nötig gewesen, da der Vergleich der statistischen Daten keine signifikanten Unterschiede für Männer und Frauen zwischen den beiden Kulturgruppen anzeigt. In Bezug auf den Zitratgehalt sind die beiden Gruppen identisch.

Die Untersuchungen zeigen, daß mit der Zitratmethode ein einzelnes Skelett nicht als männlich oder weiblich hätte bestimmt werden können. So wäre z.B. ein weibliches Individuum der Altersklasse Adult aus der Skelettserie Trebur-Großgartach als männlich bestimmt worden, hätte man es mit den Ergebnissen der Skelettserie Pleidelsheim verglichen. Es ist allerdings möglich, auch eine kleinere Anzahl von Skeletten zu bestimmen, solange eines von ihnen, welches der gleichen Altersgruppe entstammt, schon mit anderen Methoden als deutlich weiblich, oder als deutlich männlich, bestimmt worden ist. Dann können auch Individuen, von denen nur kleine Knochenfragmente erhalten sind, als männlich oder weiblich angesprochen werden. Dabei würde man zunächst Knochenproben mit identischen, oder ähnlichen Zitratwerten dem gleichen Geschlecht zuordnen, während Proben mit stark abweichenden Werten dem anderen Geschlecht entsprächen. Um Proben mit einer mittleren Zitratkonzentration (indifferente Ausprägung des Zitratgehaltes) wird auf Normalverteilung geprüft und wie in Kapitel 2.2.1.7 beschrieben fortgefahren.

## 5 Zusammenfassung

Die anthropologische Geschlechtsbestimmung Erwachsener beruht in erster Linie auf dem Ausprägungsgrad bestimmter Form- und Größenmerkmale des Skelettes. Am besten lassen sich Merkmale des Schädels und des Beckens zur morphologischen Geschlechtsbestimmung heranziehen. Eine Bestimmung ist dann nur eingeschränkt oder gar nicht möglich, wenn das zu untersuchende Skelettindividuum nur fragmentarisch vorhanden ist und entsprechende Geschlechtsmarker fehlen.

Die DNA-Analyse ist die einzige Methode, die das wirkliche Geschlecht bestimmt, da sie das X-, bzw. das Y-Chromosom nachweist, und sich daher auch auf Kinderskelette anwenden läßt. Sie ist als wirkliche Alternative zu morphometrischen Methoden allerdings nur für die Bearbeitung von Einzelindividuen denkbar, da sie nicht nur sehr zeitaufwendig sondern auch kostenintensiv ist.

Mitte des 20.Jh. fand man bei Sektionsmaterial heraus, daß der Gehalt an Zitat (Kalziumsalz der Zitronensäure) in den Wirbelkörpern der Frauen im Alter zwischen dem Beginn der geschlechtlichen Reife und dem Klimakterium signifikant höher ist als bei Männern des gleichen Alters. Für die quantitative Bestimmung der Zitatkonzentration werden mehrere Methoden beschrieben, die alle als mehr oder weniger kosten- und zeitintensiv beschrieben werden. In den letzten 50 Jahren wurde hauptsächlich die Methode nach HESS (1956) angewendet, bei der es allerdings zu vielen Fehlern kommen kann. Aus diesem Grunde ist in dieser Arbeit zum ersten Mal auch die enzymatische Methode nach BOEHRINGER MANNHEIM (1994) auf ihre Anwendbarkeit auf Knochenmaterial getestet worden. Diese Methode diente bisher nur zur Bestimmung des Zitatgehaltes von Lebensmitteln und besticht im allgemeinen durch ihre Einfachheit und Genauigkeit.

Es wurden insgesamt 225 verschiedene Knochenproben aus 6 verschiedenen Untersuchungsgruppen auf ihren Zitatgehalt getestet. Sie wurden alle geschlechtsbestimmt und das Ergebnis mit dem wirklichen Geschlecht, bzw. der anthropologischen (morphometrischen) Geschlechtsbestimmung verglichen. Dabei konnten folgende Ergebnisse erzielt werden:

Die mit der enzymatischen Methode nach BOEHRINGER MANNHEIM (1994) errechneten Zitatkonzentrationen liegen bei beiden Geschlechtern und in allen Altersgruppen (insgesamt 54 Knochenproben der Lendenwirbelsäule) bei frischem Knochenmaterial aus Obduktionen und Operationen über denen, die mit Hilfe der Methode nach HESS (1956) am gleichen Material gewonnen wurden.

Die Bestimmungssicherheit der Methode nach BOEHRINGER MANNHEIM (1994) liegt geringfügig, aber nicht signifikant, über der der Methode nach HESS (1956) und bei beiden Methoden bei über 90%. Darüber hinaus ist die Bearbeitung einer Untersuchungsserie mit der Zitatmethode nach BOEHRINGER MANNHEIM (1994) billiger, wesentlich einfacher und weniger zeitaufwendig.

Die Zitratkonzentrationen zeigen an historischem Material (hier 68 Proben von je 5 verschiedenen Skelettregionen) keine signifikanten Unterschiede zwischen verschiedenen Skelettregionen oder zwischen den Knochenzonen Kompakta und Spongiosa. Da der Zitratgehalt des Knochens aber nicht nur durch die Einlagerung während des Lebens, sondern auch durch den Abbau während der Bodenlagerung bestimmt wird, läßt sich keine Aussage über unterschiedliche Einlagerungen in die verschiedenen Knochenzonen Kompakta und Spongiosa treffen. Die Bestimmungssicherheit mit der Zitratmethode liegt bei der Verwendung von Lendenwirbelkörperspongiosa (hier 100%) etwas über der von Extremitätenkompakta (hier 94,4%).

Die Methode der Zitratbestimmung zur Geschlechtsbestimmung läßt sich offenbar nur dann auf Kinder der Altersgruppen Infans I und Infans II (0-12 Jahre) anwenden, wenn wenigstens eines der Kinder mit anthropologischen oder archäologischen Methoden als männlich oder weiblich bestimmt wurde. Mit diesem ‚Marker‘ können dann die anderen Kinder ebenfalls einem Geschlecht zugeordnet werden. Die Bestimmungssicherheit liegt dabei bei 87,5% und damit deutlich unter der Bestimmungssicherheit bei Erwachsenen (hier 100%). Der Nachweis, daß auch Skelettindividuen im Alter von über 60 Jahren mit dieser Methode nicht mehr als männlich oder weiblich zu bestimmen sind, konnte nicht erbracht werden. Anscheinend sinkt die Bestimmungssicherheit aber ab (hier 80% bei 61-82jährigen gegenüber 100% bei 18-60jährigen).

Die Bestimmungssicherheit der Zitratmethode nach BOEHRINGER MANNHEIM (1994) liegt bei allen Untersuchungsgruppen bei über 90% (zwischen 94% und 100%), im Durchschnitt aller untersuchten Knochenproben bei 96%.

Skelettserien von verschiedener geographischer Herkunft oder aus unterschiedlichen zeitlichen Epochen lassen sich prinzipiell nicht miteinander vergleichen. Ein einzelnes gefundenes Skelett kann demnach nicht als männlich oder weiblich bestimmt werden, da keine Vergleichsdaten zur Verfügung stehen. Ein Vergleich der Zitratkonzentration dieses Skelettes mit einer zeitlich und räumlich benachbarten Serie kann, muß aber nicht, ein richtiges Ergebnis bei der Geschlechtsbestimmung ergeben. Weiterhin ist es wichtig, das ungefähre Alter des Skelettindividuums zum Zeitpunkt des Todes, bzw. der Knochenentnahme zu kennen, da die Zitratkonzentration des Knochens altersabhängig ist.

Die Anwendbarkeit der Zitratmethode auf Leichenbrände (hier 25 Individuen) eröffnet eine neue Möglichkeit der Geschlechtsbestimmung an nur fragmentarisch vorhandenen Skelettindividuen.

Insgesamt kann aus den in dieser Arbeit durchgeführten Untersuchungen zu Möglichkeiten und Grenzen der Zitratmethode zur Geschlechtsbestimmung alter bodengelagerter menschlicher Knochen geschlossen werden, daß es nicht möglich ist, ein einzelnes Skelett oder Skelettfragment durch die Erfassung der Zitratkonzentration als männlich oder weiblich zu bestimmen.

Eine Geschlechtsbestimmung ist durchführbar, wenn eine möglichst große Anzahl von Skelettindividuen der gleichen Serie untersucht wird, die also den gleichen geologischen und klimatischen Bedingungen unterworfen war. Auf diese Weise erhält man einen Überblick über die Variabilität der Zitratkonzentration innerhalb dieser Serie und kann mit Hilfe eines statistisch ermittelten Trennwertes zwischen Männern und Frauen einer Altersgruppe hohe Werte den Frauen und niedrige Werte den Männern zuweisen. Ebenso kann eine Probe eines als Mann oder Frau bekannten Skelettes als „Geschlechtmarker“ zur Wiederfindung der Geschlechter der gleichen Altersklasse und der gleichen Serie dienen. Eine relativ große Konzentrationsdifferenz zwischen den Geschlechtern (hier zwischen 4,2% in der Altersstufe Senil bis 46,4% bei 21-30jährigen) erlaubt eine Einordnung der Individuen.

Die Geschlechtsbestimmung mit der Zitratmethode nach BOEHRINGER MANNHEIM (1994) ist einfach, sicher und günstig. Sie bietet damit die Möglichkeit die anhand morphometrischer Merkmale erstellten Geschlechtsbestimmungen abzusichern, bzw. nicht bestimmbare Individuen einer Serie einem Geschlecht zuzuordnen.

## 6 Literaturverzeichnis

- Boehringer Mannheim 1994: Methoden der enzymatischen BioAnalytik und Lebensmittelanalytik, 31.
- Brezina, M. & Zuman, P. 1956: Die Polarographie in der Medizin, Biochemie und Pharmazie. Akad. Verlagsgesellschaft, Leipzig.
- Brothwell, D. R. 1963: Digging up Bones. The excavation, treatment and study of human skeletal remains. British Museum-Natural History, London.
- Brothwell, D. R. 1968: *The Skeletal Biology of Earlier Human Populations*. Pergamon Press, Oxford, 271.
- Cook, S. F. 1959: In: The Application of quantitative Methods in Archaeology. *Wenner Gren Found. Publ.*, Chicago, 1960.
- Czarnetzki, A., Uhlig, C. & Wolf, R. 1982: Menschen des frühen Mittelalters im Spiegel der Anthropologie und Medizin. *Begleitheft zur Ausstellung*. Württembergisches Landesmuseum Stuttgart.
- Dennison, J. 1979: Citrate Estimate as a Means of Determining the Sex of Human Skeletal Material. *Archaeology and Physical Anthropology in Oceania* 14, 2, 136-143.
- Dickens, F. 1941: The Citric Acid Content of Animal Tissues, with reference to its Occurrence in Bone and Tumour. *Biochemical Journal* 35, 1011-1023.
- Ditch, L. E. & Rose, J. C. 1972: A multivariate dental sexing technique. *Am. J. Phys. Anthropol.* 37, 61-64.
- Fujiwara, K. 1916: Sitzungsberichte. *Naturforschende Gesellschaft*, Rostock 6, 22.
- Göldner, H. 1990: Ein Gräberfeld der jüngeren Steinzeit bei Trebur. *Denkmalpflege in Hessen*, 1, 11.
- Gruber, W. & Möllering, H. 1966: Citrat-Lyase und Bestimmung von Citrat. *Biochemische Zeitschrift* 346, 85-88.
- Hagelberg, E., Sykes, B. & Hedges, R. E. M. 1989: Ancient bone DNA amplified. *Nature* 342, 485.

- Heizer, R. & Cook, S. 1960: The application of quantitative methods in archaeology. Chicago.
- Henning, W. & Theopold, W. 1951: Complexes of metals formes with the citrate. *Zeitschrift für Kinderheilkunde* 69, 55.
- Herrmann, B., Gruppe, G., Hummel, S., Piepenbrink, H. & Schutkowsky, H. 1990: Prähistorische Anthropologie. Springer Verlag.
- Herrmann, B. & Sprandel, R. 1987: Determinanten der Bevölkerungsentwicklung im Mittelalter. *VCH Acta humaniora*. Weinheim
- Hess, W. C. 1956: Simplified method for the determination of citric acid in dentin and bone. *Journal of Dental Research* 34, 462-465.
- Hess, W. C. & White, A. A. 1956: A simplified Method for the determination of Citric Acid in Dentin and Bone. *Journal of Dental Research* 34, 462-465.
- Howells, W. 1960: Estimating population numbers through archaeological and skeletal remains. In: Heizer & Cook, Chicago.
- Jacobshagen, B. & Kunter, M. 1991: Die mittelneolithische Skelettpopulation aus Trebur/Südhessen. Ergebnisse der anthropologischen Bearbeitung.
- Kiszely, I. 1974: On the Possibilities and Methods of the Chemical Determination of Sex from Bones. *Ossa International Journal of skeletal Research* 1, 51-62.
- Krebs, H. & Johnson, W. 1943: Advances in enzymology and related subject of biochemistry. *Interscience Publishers*. New York.
- Krogman, W. M. 1962: The human skeleton in forensic medicine. In: Charles C. Thomas, Springfield (I 11).
- Krogman, W.M. & Isçan, M.Y. 1986: The human skeleton in forensic medicine. 2<sup>nd</sup> Edition. In: Charles C. Thomas, Springfield.
- Kunter, M. 1977: Kamid el-Loz. 4. Anthropologische Untersuchung der menschlichen Skelettreste aus dem eisenzeitlichen Friedhof. Rudolf Habelt Verlag GmbH. Bonn.

- Kuyper, A. C. 1945: The interrelation of citrate and calcium metabolism. *J. biol. Chem.* 159, 411.
- Langenscheidt, F. 1983: Diskriminanzanalytische Geschlechtsbestimmung anhand von Zahnmaßen – unter Verwendung von Verfahren zur angenäherten unverzerrten Schätzung der Trennstärke. *Homo*, Bd. 34, 22-27.
- Lengyel, I. 1964: Contribution à l'analyse histologique, serologique et chimique combinée des os et des dents en archeologie. *Bull. Group. Int. Rech. Sc. Stomat.* 7, 182.
- Lengyel, I. 1968: Biochemical Aspects of Early Skeletons. In *The Skeletal Biology of Earlier human Populations* (Ed. D. Brothwell). Oxford: Pergamon Press, p. 271.
- Lengyel, I. 1969: Bestimmung der Geschlechtszugehörigkeit im Laboratorium. *Wiss. Z. Humboldt Univ. Berlin. Math-Nat. R.* 18, 977.
- Lengyel, I. 1970: Preliminary report about the laboratorial examination of the bone finds discovered in Lepenski-Vir. *Anthropológiai Közlemények. Budapest* 15, 3-4, 181, (Hung.).
- Lengyel, I. 1972: Allgemeine Grundprinzipien von Laborversuchen an Knochen. *MittArchInst* 3, 129, Budapest.
- Lengyel, I. & Farkas, G. 1972: Critical Evaluation of the Results Gained by Morphological and Laboratory Analysis of the Human Bone. Remains of the Early Bronze Age Cemetery of Mokrin. *Anthropologiai Közlemények. Budapest.* 16, 51. (Hung.).
- Lengyel, I. & Nemeskéry, J. 1963: Application of Biochemical Methods to Biological Reconstruction. *Zeitschrift für Morphologie und Anthropologie*, 54.1., 1.
- Lengyel, I. & Nemeskéry, J. 1970: Analysis of the structure of a 9<sup>th</sup> century population relying on the laboratory. Lecture delivered at the 9<sup>th</sup> Hungarian Congress of Biology. Budapest, 6-8 May. *Publ. Dem. Res. Inst.* 32, 42.
- Martin, R. 1928: *Lehrbuch der Anthropologie*. 2. Aufl., Fischer, Jena.

- Mecke, B. 1995: Brief an Prof. Dr. M. Kunter Gießen. Unveröffentlicht.
- Moosleitner, F. 1992: Brief an Prof. Dr. M. Kunter Gießen. Unveröffentlicht.
- Mortimer, C. E. 1987: *Chemie*. 5. Aufl., Georg Thieme Verlag Stuttgart.
- Nemeskéry, J. & Lengyel, I. 1963: New Methods in the reconstruction of historic populations (Hung.). Újabb biológiai módszerek a történeti népeiségek rekonstrukciójában. Magyar Tud. Akadémia *Biol. Tud. Oszt. Közl.* 6, 3-4, 333.
- Oakley, K. P. 1956: Analytical Methods of Dating Bones. *Advancement of Science*, London 11, 3.
- Riggs, B. L., Jowsey, J., Kelly, P. J., Jones, J. D. & Maher, F. T. 1969: Effects of Sex Hormones on Bone in Primary (Preliminary) Osteoporosis. *The Journal of Clinical Investigation* 48: 6, 1065-1072.
- Rösing, F. W. 1983: Sexing immature human skeletons. *J. Hum. Evol.* 12, 149-153.
- Sachs, L. 1978: *Statistische Auswertungsmethoden*. Springer, Berlin.
- Sherman, C., Mendel, L. & Smith, A. 1936: Citrate as a product of endogenous metabolism. *J. Biol. Chem.* 113, 247.
- Shorr, E., Bernheim, A. R. & Taussky, H. 1942: The Relation of Urinary Citric Acid Excretion to the Menstrual Cycle and the Steroidal Reproductive Hormones. *Science* 95, 606-607.
- Sjøvold, T. 1975: In: R. Knussmann (Hrsg.): *Anthropologie, Handbuch der vergleichenden Biologie des Menschen*, 4. Aufl., Bd. I: Wesen und Methoden der Anthropologie. 1. Teil: Wissenschaftstheorie, Geschichte, morphologische Methoden. Gustav Fischer, Stuttgart-New York, 1988, 436-442.
- Stewart, T. D. 1954: Sex determination of the skeleton by guess and by measurements. *Am. J. Phys. Anthropol.* N.S. 12: 385-392.
- Taussky, H. 1947: Determination of citric acid in body fluids. *J. Biol. Chem.* 169, S. 235.

- Taussky, H. & Shorr, E. 1947: A Microcolorimetric Method for the Determination of Citric Acid. *J. Biol. Chem.* 169, 103.
- Thunberg, T. 1947: The Citric Acid Content of Older, especially Mediaeval and Prehistoric Bone Material. *Acta Physiologica Scandinavica* 14, 245-247.
- Vollhardt, K. P. C. 1990: *Organische Chemie*. Verlag Chemie.

## Danksagung

Bedanken möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. M. Kunter, der mir durch die Überlassung des Themas und seine Betreuung die Möglichkeit gab, diese anthropologische Arbeit zu erstellen.

Dem Leiter des Institutes für Biochemie des Fachbereichs Biologie, Chemie, Geowissenschaften der Justus-Liebig-Universität Gießen, Herrn Prof. Dr. A. Pingoud, sowie dem Leiter des Institutes für Allgemeine Botanik und Pflanzenphysiologie, Herrn Prof. Dr. E. Pahlich danke ich für die freundliche Bereitstellung eines Arbeitsplatzes in den jeweiligen Instituten und die Möglichkeit, dort vorhandene Geräte zu benutzen.

Für ihre Unterstützung bei der Beschaffung von frischem Knochenmaterial gilt mein Dank den Leitern des Institutes für Rechtsmedizin und des Institutes für Pathologie des Fachbereichs Medizin der Justus-Liebig-Universität Gießen, den Herren Proff. Drs. G. Weiler und A. Schulz sowie dem Leiter des Krankenhauses Oldenburg und ihren Mitarbeitern. Des weiteren Herrn S. Sprotte, der den Kontakt zu dem Krankenhaus erst ermöglichte.

Vor allem möchte ich mich bei Herrn A. Faßl bedanken, der mir während der gesamten Phase bei der Erstellung dieser Arbeit eine unersetzliche Hilfe war.

# Lebenslauf

<b>Persönliche Daten:</b>	Name:	Malek, Claudia
	Staatsangehörigkeit:	deutsch
	Geburtsdatum:	10.04.1971
	Geburtsort:	Wetzlar
	Eltern:	Malek, Helmut Joseph Malek, Erika, geb. Ebner
<b>Schulbildung:</b>	1976-1981	Grundschule Wetzlar
	1981-1987	Gesamtschule Wetzlar
	1987-1990	Gymnasiale Oberstufe Wetzlar
	1990	Abitur
<b>Studium:</b>	1990-1995	Studium der Biologie in Gießen
	1995	Abschluß als Diplom-Biologin
	Seit 1999	Studium der Medizin in Gießen
<b>Beruflicher Werdegang:</b>	Seit 1995	Tätigkeit als Wissenschaftliche Hilfskraft und Beginn der Dissertation am Anthropologischen Institut der Universität Gießen
	1997-1998	Unterbrechung aus gesundheitlichen Gründen