

AZ AMINOSAVAK RACEMIZÁCIÓJÁN ALAPULÓ ÉLETKORBECSLÉS BEVEZETÉSE A TÖRTÉNETI EMBERTANI KUTATÁSOKBA

*Csapó János¹, Bernert Zsolt², Csapó Zsuzsanna³, Pohn Gabriella¹,
Csapó-Kiss Zsuzsanna¹, Költő László⁴ és Szikossy Ildikó²*

¹Kaposvári Egyetem Állattudományi Kar, Biokémiai és Élelmiszerkémiai Tanszék, Kaposvár

²Magyar Természettudományi Múzeum, Embertani Tár, Budapest

³Pécsi Egyetem Jogtudományi Kar, Pécs

⁴Somogy Megyei Múzeumok Igazgatósága, Kaposvár

Csapó, J., Bernert, Zs., Csapó, Zs., Pohn, G., Csapó-Kiss, Zs., Költő, L., Szikossy, I.: The study describes the results of the application of an age estimation method has not been used up till now in historical anthropology. During analysis of 126 teeth of specimens (individual age range 17–86 years) the authors found high correlation between the D-aspartic acid content, the D/L rate of aspartic acid and the individual age of the specimens. They developed a method for age estimation based on the D-aspartic acid content and the racemisation of L-aspartic acid of the teeth. They stated that beside the aspartic acid, the D-glutamic acid is well applicable for the individual age estimation of the specimens, with the application of an analytical method sensitive enough. They applied the calibrating curves based on these investigations for the age estimation of 65 adult individuals of unknown individual age (39 males and 26 females) of the Avar Period series of Kereki-Homokbánya. The age distribution of the specimens whose teeth were examined: 39 specimens (60 %) belong to the adult, 22 specimens (34 %) to the mature, and 4 specimens (6 %) belong to the senile age group. The results applying the historical anthropology methods for age estimation had an extremely high coincide with the results of the age estimation based on the amino-acid racemisation, r is over 0.9.

Keywords: Age estimation; Dental method; Adults; Amino-acid racemisation; D-aspartic acid; D-glutamic acid; Physical anthropology; Avar Period.

Bevezetés

A történeti népszégek vizsgálatának fontos része az elhalálozási életkor lehető legpontosabb becslése. Jelen dolgozatunkban egy, a történeti embertanban eddig nem alkalmazott életkorbecslő módszer alkalmazásának eredményeiről számolunk be.

Az életkorbecslés általános elvi problematikáját az alábbiakban foglalhatjuk össze. Az életkoron a hétköznapi gyakorlatban az ember születése és halála között eltelt időt értjük, amelyet hagyományosan években, hónapokban, hetekben, stb. mérünk. Ez a naptári vagy kronológiai életkor. A történeti embertanban alkalmazott életkorbecslő eljárások az életkor előrehaladtával a csontvázon és a fogazaton bekövetkező változásokat vizsgálják. A növekedés, a fejlődés, az öregedés mind a csontrendszeren, mind a fogazaton markáns nyomokat hagy, amelyek alapján az ún. szekeletális és dentális életkort vagyunk képesek becsülni. A szekeletális és a dentális életkor az adott egyén biológiai életkorából adódik. Amennyiben az egyén biológiai életkora megközelíti a naptári életkorát, akkor az általunk becsült szekeletális (és dentális) életkor közel eshet a kalendáris életkorhoz

(Ubelaker 1989). A naptári vagy kalendáris életkort tehát a biológiai életkoron keresztül közvetve tudjuk becsülni.

Az egyedfejlődés, a szervezet biológiai öregedése, amelyeket az antropológus az életkorbecslés során vizsgál külső (környezeti) és belső (genetikus) tényezők sokaságától függ. Amíg a kronológiai életkor az idő múlásával egyenletesen telik, addig a biológiai életkor előrehaladása egyének között sőt az egyén egyes részein belül is eltérő ütemű. Ezért nem tudjuk a biológiai életkort mérő módszereinket a kronológiai idő múlásához pontosan kalibrálni, hiszen azt csak egyénre szabottan lehetne. A biológiai életkor tehát sokszor nem esik egybe az egyén tényleges naptári életkorával. A történeti embertanban ezért a kronológiai életkort bizonyos (minimum öt éves) intervallumon belül becsülhetjük. Más célt nem is tűzhetünk ki magunk elé, mint ennek az intervallumnak a minél nagyobb százalékos valószínűséggel való elérését.

Az életkorbecslés terén jelentős előrelépést a történeti embertanban az emberi testbe épített, a halál után évszázadokkal később is könnyen vizsgálható, a környezet változásaitól kevésbé függő anyagátalakulások vizsgálata jelentheti.

Az aminosavak racemizációjára vonatkozó kutatások áttekintése

Elsőként Helfman és Bada (1975) közölték, hogy a fogakban lejátszódó aszparaginsav racemizációja felhasználható élő emlősállatok és az ember korának becslésére. Az aszparaginsav reakció sebességi állandóját (k_{Asp}) az emberi fogban $8,29 \times 10^{-4} \text{ év}^{-1}$ -nek, egy évvel később $7,87 \times 10^{-4} \text{ év}^{-1}$ -nek mérték (Helfman és Bada, 1976). Bada és Brown (1980) az $\ln(1+D/L)/(1-D/L)$ értékeket ábrázolva az idő függvényében egy hitelesítő görbét kaptak. A különböző állatfajok tényleges kora és az aminosav racemizáció alapján becsült kor között jó egyezést találtak.

Gillard és mtsai (1990) a premolárisok és a molárisok D-Asp tartalmát vizsgálták. Ugyanazon fog koronájának különböző részeiből és a foggyökerekből származó D-Asp tartalomban lényeges különbségeket kimutatni nem tudtak. Ohtani és Yamamoto (1992) a fogzománc és a dentinállomány D-Asp tartalmát összehasonlítva jelentős különbségeket állapítottak meg a becsült életkor és a tényleges életkor között. Kimutatták, hogy a dentinben a racemizáció ($k_{\text{Asp}} = 5,75 \times 10^{-4} \text{ év}^{-1}$) gyorsabb, mint a zománcban ($k_{\text{Asp}} = 4,47 \times 10^{-4} \text{ év}^{-1}$). Úgy vélték, hogy a dentin alapján pontosabban becsülhető az életkor (± 3 év), mint a zománc alapján ($\pm 2-11$ év). A halál bekövetkezése után, 15°C -os átlaghőmérsékletre számolva ($k_{\text{Asp}} = 9,70 \times 10^{-8} \text{ év}^{-1}$ a dentinre és $k_{\text{Asp}} = 1,330 \times 10^{-7} \text{ év}^{-1}$ a zománcra) meghatározták a reakciósebességi állandókat is.

Ritz és mtsai (1993) a harmadik őrlőfog gyökerének dentin állományát vizsgálva megállapították, hogy a gyökér dentinjében az Asp racemizációja némiképpen eltér a fogkorona dentinjében tapasztaltaktól. Kalibrációs görbét szerkesztettek azokra a kormeghatározási esetekre számolva, amikor a koronaállomány valamiért károsodott. Megállapították, hogy a savban oldható fehérjékben az Asp racemizációjának mértéke többszöröse a savban nem oldhatókhoz képest.

Ohtani (1994) a középső és az oldalsó metszőfogak, a szemfog, az első és a második őrlőfog, valamint ezek átlagában vizsgálta az Asp racemizációját. Szoros korrelációt állapított meg a valódi életkor és a D/L Asp arány között. Véleménye szerint a tejfogakban lejátszódó racemizáció kiválóan használható az egyén életkorának becslésére, ami, szerinte nem mondható el az állandó fogakról. Ritz és mtsai (1995) egy biopsziás mintavételi technikát dolgoztak ki a fogakból. A szigorúan szabályozott mintavételi módszernek köszönhetően az Asp racemizációja alapján mért életkor nagyon

jó egyezést mutatott a valódi életkorral. Fu és mtsai (1995) 28 első őrlőfog D-Asp tartalmát meghatározva megállapították, hogy az aminosav-racemizáció jól használható az egyén életkorának pontos becslésére. Méréseik során az esetek 46,4%-ában a hibahatár nem volt nagyobb ± 1 évnél, és az életkorbecslés hibája sohasem haladta meg a ± 5 évet.

Az analitikai módszerek utóbbi időben bekövetkezett rohamos fejlődése ellenére sincs még olyan módszer, amivel az összes fehérjealkotó aminosav enantiomerjeit egy lépésben tökéletesen szét lehetne választani. A D-Asp-at könnyen ki lehetett mutatni, el lehetett választani az L-Asp-tól és a többi aminosavtól ill. azok enantiomereitől, ezért jól használható az analitikai vizsgálatokban.

Az idézett irodalmak még csak említést sem tesznek arról, hogy az Asp-on kívül más aminosavat használtak volna az egyén korának becslésére. Fosztilis csontokkal korábban végzett kísérleteik során Csapó és mtsai meghatározták az aminosavak-racemizációs felezési idejét (Csapó és mtsai 1994; Csapó és mtsai 1998). Az Asp racemizációs felezési idejét 13500 évnél, a hisztidinét (His) 5500 évnél, a fenilalaninét (Phe) 8500 évnél, a tirozinét (Tyr) 13500 évnél, az szerinét (Ser) 16500 évnél, a treoninét (Thr) 17000 évnél, a Glu-ét 28500 évnél, az alaninét (Ala) 32000 évnél, az izoleucinét (Ile), a leucinét (Leu) és a valinét (Val) pedig 110000, 140000 ill. 180000 évnél találták. Ebből következik, hogy az Asp-nál gyorsabban racemizálódó aminosavak (His, Phe, Tyr) esetében remény van arra, hogy ezek D-enantiomerjei az Asp-hoz hasonlóan jó indikátorai legyenek az egyén életkorának, és az Asp és a Glu közé eső két aminosav (Ser, Thr) is hasznos információt szolgáltathat az életkort illetően.

A vizsgált történeti népesség régészeti leírása

A Balatontól és Kőröshegytől délre fekvő Kereki községben homokbányászás közben előkerült avar temető leletmentésére 1987-88-ban került sor. 151 sírt tártak fel (Költő 1988, 1991). A temetőben feltárt négy sírcsoport egy erősen archaikus vonásokkal rendelkező késői avar közösség teljesen érintetlen temetője, melyet valószínűleg a VIII. század első harmadától használhattak 3–4 generáción át. A temető különlegessége, hogy az ebben a korban szokatlanul bolygatatlan sírokból összesen 21 övgarnitúra került elő.

Az életkor becslésére alkalmazott „klasszikus” antropológiai módszerek

Kereki-Homokbánya egykori népességének paleodemográfiai és paleosztomatológiai vizsgálatához (Bernert 1996a, Szikossy-Bernert 1996) az elhalálózási életkor lehető legpontosabb becslését különösen fontosnak tartottuk, ezért a nemzetközileg elismert életkorbecslő módszerek egész sorát alkalmaztuk.

A felnőttek esetében a bordák szternális végének alakulását (Iskan et al. 1984), az os pubis facies symphyseosa felszíni változásait (Todd cit. Ubelaker 1989) és az agykoponya varratainak ectocraniális (Meindl és Lovejoy 1985, Vallois cit. Farkas 1972) és endocraniális csontosodásának mértékét (Nemeskéri et al. 1960) vizsgáltuk. Megállapítottuk továbbá a maradó fogak gyökereiben a szervesetlen anyagok demineralizációjának előrehaladottságát (Lamendin et al. 1992), az egyszerűbb számolás kedvéért az általunk készített táblázatok alapján (Bernert 1996b). Felhasználtuk a maradó fogak kopottságát az életkor megbecslésére (Perizonius cit. Éry 1992), amikor annak oka fiziológias folyamatra volt visszavezethető.

Az életkort – amikor a csontváz megtartottsága csak megengedte – megpróbáltuk öt éves tartományon belül megbecsleni.

A vizsgált történeti embertani anyag nem- és életkor szerinti megoszlása

A jelenlegi vizsgálatba az egykori népesség 65 felnőtt tagját (39 férfi, 26 nő) vontuk be (1. és 3. táblázat).

1. táblázat. A vizsgálatokba bevont egyének nem- és korcsoport szerinti megoszlása.

Table 1. Distribution according to sex and age groups of the individuals.

	Korcsoportok	Férfi	Nő	Együtt
	Age groups	Male	Female	Together
Adultus	20-24	0	1	1
	25-29	2	2	4
	30-34	9	5	14
	35-39	8	10	18
Összesen - Total	20-39	19	18	37
	40-44	6	1	7
Maturus	45-49	5	2	7
	50-54	3	1	4
	55-59	1	2	3
Összesen - Total	40-59	15	6	21
	60-64	0	0	0
Senium	65-69	2	1	3
	70-74	1	0	1
	75-79	0	0	0
Összesen - Total	60-79	3	1	4
	Mindösszesen - Total	20-79	37	25

2. táblázat. A vizsgálatokba bevont egyének életkorbecslésére alkalmazott módszerek.

Table 2. Methods for age estimation of adults.

A módszer és az általa vizsgált terület Methods for age estimation	Vizsgálhatóság Case	
	N	%
A foggyökér átlátszósága, a fogínysorvadás nyoma a fognyakon The transparency of the root and the periodontosis	64	98,46
A fog kopása a rágófelületen The degree of abrasio of the teeth	60	92,31
A koponyavarratok záródása az ektokraniális oldalon The ectocranial ossification of sutures	57	87,69
A koponyavarratok záródása az endokraniális oldalon The endocranial ossification of sutures	49	75,38
A symphysis ossis pubis felszínének megváltozása The changes of the surface of the facies symphyseos ossis pubis	15	23,08
A bordák sternalis végének megváltozása The changes of the surface of the sternal extremity of the rib	7	10,77

3. táblázat. A vizsgálatba bevont egyének részletezett nemi és életkori adatai.

Table 3. Individual sex and age data.

Leltáriszám	Sírszám	Morf. nem	Becsült életkor (év)	Leltáriszám	Sírszám	Morf. Nem	Becsült életkor (év)
Inventory No.	Grave No.	Sex	Age estimated (year)	Inventory No.	Grave No.	Sex	Age Estimated (year)
94.1.1.	1	férfi	35–39	94.1.87.	82	férfi	40–44
94.1.3.	3	férfi	30–34	94.1.92.	87	nő	35–39
94.1.4.	4A	férfi	30–34	94.1.94.	89	nő	30–34
94.1.6.	5	férfi	45–49	94.1.99.	93	férfi	30–34
94.1.7.	7	férfi	30–34	94.1.107.	102	férfi	65–69
94.1.8.	8A	nő	20–24	94.1.108.	103	férfi	70–74
94.1.11.	9	férfi	25–29	94.1.110.	104B	férfi	45–49
94.1.13.	12	férfi	40–44	94.1.111.	105	férfi	50–54
94.1.14.	13A	nő	45–49	94.1.112.	106	nő	65–69
94.1.17.	15A	nő	50–54	94.1.113.	107	férfi	35–39
94.1.21.	18	nő	35–39	94.1.115.	109	férfi	35–39
94.1.22.	19A	férfi ?	45–49	94.1.116.	110	férfi	50–54
94.1.24.	20	férfi	45–49	94.1.117.	111	nő	55–59
94.1.26.	22	férfi	30–34	94.1.118.	112	nő	35–39
94.1.27.	23	nő	35–39	94.1.119.	113	férfi	35–39
94.1.29., 30.	25 (26)	férfi	30–34	94.1.122.	117	nő	35–39
94.1.32.	28	nő	35–39	94.1.123.	118	nő	35–39
94.1.40.	36A	nő	35–39	94.1.127.	122	nő	30–39
94.1.43.	38	nő	40–44	94.1.129.	124	férfi	45–49
94.1.44.	39	férfi	35–39	94.1.130.	125	nő	30–34
94.1.46.	41	férfi	50–54	94.1.132.	127	nő	30–34
94.1.47.	42	férfi	40–44	94.1.133.	128	férfi	40–44
94.1.48.	43A	férfi	40–44	94.1.138.	133	nő	30–34
94.1.51.	45	nő	45–49	94.1.141.	136	férfi	40–49
94.1.55.	49	férfi	35–39	94.1.142.	137	nő ?	30–34
94.1.57.	51	férfi	40–44	94.1.143.	138	férfi	30–34
94.1.58.	52	férfi ?	35–39	94.1.144.	139	férfi ?	25–29
94.1.60.	54	férfi	25–34	94.1.146.	141	nő	25–29
94.1.63.	57	nő ?	25–29	94.1.148.	143	nő ?	60–64
94.1.65.	59	nő	35–39	94.1.150.	145	férfi	30–34
94.1.77.	72	férfi	65–69	94.1.152.	148	nő	35–39
94.1.78.	73	férfi	35–39	94.1.155.	151	férfi ?	55–59
94.1.86.	81	férfi	30–34				

A nemek és a Martin által javasolt (Martin 1957) korcsoportok szerinti megoszlást az 1. táblázat mutatja. A vizsgált 65 egyén közül 39 fő (60%) az adultus, 22 fő (34 %) a matus korcsoportba és 4 fő (6%) a senium korcsoportba tartozik. A népességben kevés volt a magas életkorúak aránya. Az egykori népesség kevesebb mint öt százaléká (4,19%) élte meg a 60 éves életkort (Bernert 1996b), ők idős korukra fogákat szinte mind

elvezették. Ez a magyarázata, hogy a senium korcsoport alacsony százalékos értékkel szerepel a mintán belül.

A vizsgálatba bevont két férfinak (25–34 éves, 40–49 éves) és egy nőnek (30–39 éves) a maradványok rossz állaga miatt csak 10 éves intervallumba tudtuk az életkorát becsülni.

A csontvázak hiányos megtartottsága miatt nem minden esetben lehetett az összes általunk kiválasztott életkorbecslő módszert használni (2. táblázat). A fogzománctól történő mintavételezés a kémiai vizsgálathoz természetesen feltételezte a fogazat legalább részleges meglétét. A gyökér transzparenciát és a fogkopást értelemszerűen szinte minden a vizsgálatba bevont személynél megfigyelhettünk. A csontvázak rossz megtartottsága miatt a többi életkorbecslő módszert csak kevesebb esetben tudtuk alkalmazni.

Az aminosavak racemizációján alapuló vizsgálatok módszere

A fogak előkészítése. A fogpreparátumok fehérje tartalmát a Kjeld-Foss gyors nitrogénelemzővel határozzuk meg. A fogak aminosav összetételét egy Labor MIM aminosavanalizátorral, a D- és az L-aminosav tartalmát egy Hitachi Merck LaChrom nagyhatékonyságú folyadékkromatográfval határozzuk meg. A fehérjemeghatározás és az összes aminosav meghatározás rutinszerűen, a vonatkozó szabványok alapján történik, a D- és L-aminosav enantiomereket pedig az alábbi módszer szerint választjuk szét ill. határozzuk meg:

A fehérjék hidrolízisére a Pyrex újrafelhasználható hidrolízis csöveket használtunk. A fehérje hidrolízise során 20–50 mg preparátumot mértünk a Pyrex hidrolízis csövekbe, melyeket előzetesen sósavval illetve kétszer desztillált vízzel kimostunk. A mintákhoz 8 cm³ 6M sósavat adtunk és egy üvegapilláris segítségével 5 percen keresztül nitrogént buborékkoltattunk át a rendszeren. A nitrogénnel történő átbuborékkoltatás után a hidrolízis csöveket azonnal lezártuk, majd a hidrolízist 110 °C-on 24 órán keresztül, 160 és 170 °C-on pedig 30 ill. 45 percen keresztül végeztük 6M sósavval. A többféle hidrolízis-módszere azért volt szükség, hogy felmérjük azt, hogy melyik hidrolízis módszernél kapjuk a legkisebb racemizációt, hisz a D-aminosavak a hidrolízis során is keletkezhetnek, ami a mérés pontosságát jelentősen befolyásolhatja. Korábbi kísérleteink alapján (Csapó és mtsai 1997) a rövid ideig végzett fehérje hidrolízis magasabb hőmérsékleten kisebb racemizációval járt, ezért ebben a kísérlet sorozatban is ezt a módszert alkalmaztuk. A hidrolízis után a csöveket szobahőmérsékletűre hűtöttük, a sósavat liofilezással eltávolítottuk, majd a maradékot 0,01M sósavban oldottuk fel. Ezt követően a hidrolizátumot szűrtük, és -25 °C-on tartottuk a D- és az L- aminosavak meghatározásáig.

A D- és az L-enantiomerek meghatározása

Készülék. A D- és az L-aminosavakat egy LaChrom Hitachi Merck nagyhatékonyságú folyadékkromatográfval határoztuk meg. A készülék egy LaChrom D-7000 System Manager rendszerből, LaChrom L-7100 HPLC pumpából, LaChrom L-7300 oszlop termosztátból, LaChrom L-7200 Autosampler-ből, LaChrom L-7400 programozható UV detektorból és LaChrom 7480 fluoreszcens detektorból áll. Az aminosav enantiomereket az o-ftálaldehiddel (OPA) és a 2,3,4,6-tetra-O-acetil-1-tio-β-D-glükopiranoziddal (TATG) történő származékképzés után, nem királis oszloppal választjuk szét gradiens elúció segítségével.

Vegyszerek. Az acetonitril és a metanolt a Rathburn (Walkerburn, U.K.) cégtől, az aminosav standardokat, az OPA-t és a TATG-t a Sigmától (St. Louis, Mo) vásároltuk. Az elüciós puffereket mono- és dinátrium-hidrogén-foszfátból állítottuk elő.

Származékképzés. A reakciót 120 µl-es mikroampullában végeztük, melyet 1,8 cm³-es térfogatú, teflonbevonatú belső zárólappal és kupakkal ellátott ampullába helyeztünk. Az automatikus mintaadagolót úgy programoztuk, hogy a 90 µl borát pufferben (0,4M; pH=9,5) oldott mintát (szabad aminosavak vagy nitrogén áramban bepárolt fehérje hidrolizátum) keverjen össze 15 µl reagenssel (8 mg OPA és 44 mg TATG feloldva 1 cm³ metanolban). Ezt követően az oldatot többszöri felszívással és visszaengedéssel jól összekevertük, majd 6 percig állni hagytuk. E reakcióelegyből - az injektáló apparátus előzetes átöblítése után - 25 µl-t injektáltunk az analitikai oszlopra. Az injektálást befejezve a rendszert 100 µl aceton:víz 70:30 arányú elegyével háromszor átöblítettük.

Az enantiomerek szétválasztása és meghatározása. Az enantiomerek szétválasztását Einarsson és mtsai (1987) módszere szerint fordított fázisú kromatográfiával, 250x4,6 mm belső átmérőjű, 5 µm részecskeméretű, Kromasil oktill (C8) töltetű analitikai oszloppal végeztük. Az oszlop élettartamának megnövelésére a mintaadagoló és az analitikai oszlop közé egy biztonsági oszlopot (RP8, Newguard, 25x3,2 mm belső átmérő, 7 µm részecskeméret, Brownlee), a pumpa és a mintaadagoló közé pedig egy tisztítóoszlopot (C18, 36x4,5 mm belső átmérő, 20 µm részecskeméretű Rsil) csatlakoztattunk. Az enantiomerek szétválasztására egy két komponensből álló gradiens rendszert alkalmaztunk, melynek összetétele a következő: A=40% metanol foszfát pufferben (9,5 mM, pH=7,05); B=acetonitril. Az áramlás sebessége 1 cm³/perc volt; a gradiens pedig az alábbiak szerint változott az idő függvényében:

Idő (perc)	0	10	35	55	56	74	75
A%	95	95	83	72	67	67	62
B%	5	5	17	28	33	33	38

Detektálás. Az OPA/TATG származékok fluoreszcenciás meghatározásánál a gerjesztési maximum 342, az emissziós maximum pedig 410 nm volt.

Az adatok tárolása és értékelése. Egy LaChrom D-7000 System Manager rendszerrel történt, melynek segítségével az L-aminosavak mellett jelenlévő D-aminosavak igen kis koncentrációban is mérhetők ill. értékelhetők.

A kapott adatokat lineáris regresszióval értékeltük. Az aszparaginsav és a glutaminsav D/L arányait ill. az $\ln(1+D/L)/(1-D/L)$ -t ábrázoltuk az idő függvényében, az ún. hitelesítő görbékét létrehozva.

A fogak D-aszparaginsav és D-glutaminsav tartalmán alapuló életkorbecslés eredményei

Kutatásainkat a Götebörgi Egyetem Fogászati Karával és Geológiai Központjával közösen végeztük. Kísérleteink során két recens fogminta csoportot analizáltunk az ún. hitelesítő görbék létrehozására. 1998–1999-ben a Pannon Agrártudományi Egyetem Kaposvári Állattenyésztési Karának fogorvosi rendelőjéből összegyűjtöttünk 22 fogat, amelyek D- és L-aszparaginsav tartalmát határoztuk meg. A mintavétel során törekedtünk arra, hogy a vizsgált egyének kora a lehető legnagyobb időintervallumot képviselje

(17–62 év) és arra is, hogy minden korosztályból megfelelően reprezentatív számú mintát sikerüljön kiválasztanunk.

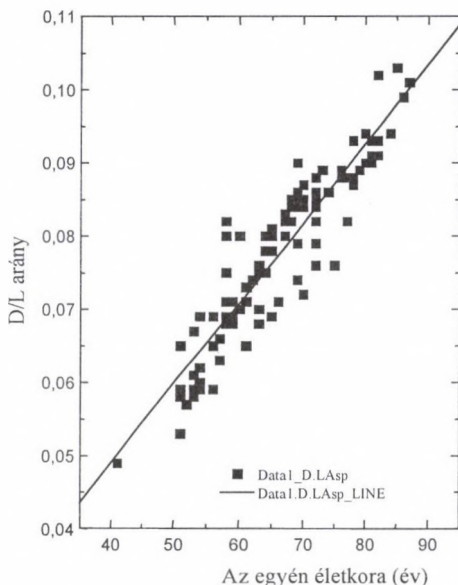
Az 1998-ban Kaposváron gyűjtött fogminták analizésének eredményeit az 4. táblázat tartalmazza. A táblázatban a D/L-aszparaginsav, a D/L-glutaminsav arányok mellett mind az aszparaginsavra mind a glutaminsavra kiszámoltuk az $\ln(1+D/L)/(1-D/L)$ összefüggést is. Mind D/L arányokat mind az $\ln(1+D/L)/(1-D/L)$ függvényt ábrázoltuk a kor függvényében, illetve lineáris regresszióval számoltuk az összefüggést az ismert kor, valamint a két aminosav D/L aránya között. Megállapítottuk, hogy a D-aszparaginsav tartalom esetében a D/L arány és a kor között rendkívül szoros, pozitív az összefüggés; az r értéke mind a D/L arány mind a számított függvény esetében 0,91 volt. A glutaminsav analízisekor megállapítottuk, hogy r értéke ezen aminosav esetében is mind a D/L arány, mind a számított függvény esetében 0,98–0,99 között alakult. Az erre a 22 fogmintára alapozott vizsgálatainkból is levonhattuk azt a következtetést, hogy a D-aszparaginsav az általunk alkalmazott analitikai módszerek mellett (fehérje hidrolízis, származékképzés, D- és L enantiomerek szétválasztása és meghatározása) jól alkalmazható az egyén korának becslésére. Levontuk azt a következtetést is, hogy a D-aszparaginsav mellett a D-glutaminsav tartalom alapján is pontos életkorbecslés végezhető, bár a D-glutaminsav racemizációs felezési idejéből következően kisebb koncentrációban van jelen a fogakban, ezért nehezebben mérhető, és mérése nagyobb odafigyelést igényel az analitikusok részéről.

4. táblázat. Különböző korú fogak D-aminosav tartalma.
Table 4. D-amino acid content of teeth of different age

Életkor (év) Age (year)	D/L arány D/L ratio		$\ln(1+D/L)/(1-D/L)$	
	Asp	Glu	Asp	Glu
17	0,034	0,017	0,068	0,034
20	0,035	0,017	0,070	0,034
21	0,036	0,019	0,072	0,038
22	0,037	0,019	0,074	0,038
22	0,038	0,020	0,076	0,040
24	0,039	0,021	0,078	0,042
24	0,038	0,019	0,076	0,038
25	0,041	0,021	0,0821	0,042
27	0,042	0,021	0,0841	0,042
28	0,043	0,021	0,0861	0,042
31	0,044	0,022	0,0881	0,044
32	0,044	0,022	0,0881	0,044
35	0,047	0,024	0,0941	0,048
40	0,050	0,026	0,1001	0,052
42	0,052	0,026	0,1041	0,052
43	0,053	0,027	0,1061	0,054
43	0,053	0,028	0,1061	0,056
44	0,053	0,027	0,1061	0,054
46	0,055	0,028	0,1100	0,056
53	0,059	0,031	0,1180	0,062
53	0,060	0,030	0,1201	0,060
62	0,065	0,033	0,1302	0,066

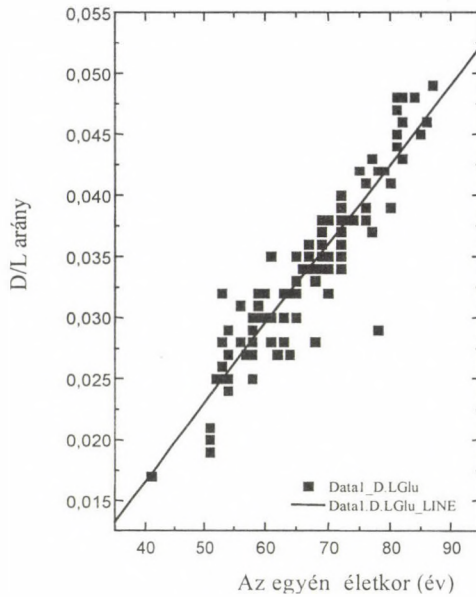
A kis számú mintára alapozott következtetéseinket 1999 évben 102 fogminta analízisével erősítettük meg, illetve a relatíve alacsony életkorokat a nagyobb korok felé kiterjesztettük. Az 1999-ben végzett vizsgálatoknál mind a D-aszparaginsav mind a D-glutaminsav esetében $r=0,93$ szoros pozitív összefüggést kaptunk a D/L arányok és az egyén kora között. Az összefüggést az egyén kora és fogának D-aszparaginsav tartalma között az 1. ábra, az egyén kora és a fog D-glutaminsav tartalma között a 2. ábra mutatja. E két összefüggés kiválóan alkalmas a 40–86 év közötti tartományban az egyén korának becslésére, fogának D-aszparaginsav és D-glutaminsav tartalma alapján. Az 1999-ben végzett vizsgálataink alapján megerősítettük az 1998-ban kapott eredményeinket, amely szerint nagyobb számú fogminta analízise után kijelenthetjük, hogy rendkívül szoros az összefüggés az egyén kora és fogának D-aszparaginsav tartalma, illetve D/L aszparaginsav aránya között.

Ugyancsak megerősítettük azon feltételezéseinket, hogy a D-aszparaginsav tartalom mellett a D-glutaminsav tartalom is használható az egyén korának becslésére, amennyiben kellően érzékeny analitikai módszer áll rendelkezésre a kis koncentrációban jelenlévő D-glutaminsav tartalom mérésére.



1. ábra: Összefüggés az egyén életkora és a fog D-aszparaginsav tartalma között.

Fig. 1: Linear regression between the age of life of the individuals and the D/L aspartic acid ratio of their teeth.



2. ábra: Összefüggés az egyén életkora és a fog D-glutaminsav tartalma között.
 Fig. 2: Linear regression between the age of life of the individuals and the D/L glutamic acid ratio of their teeth.

Az antropológiai vizsgálatokon és az aminosav-racemizáción alapuló életkorbecslések összefüggései

Vizsgálataink harmadik fázisában az aminosav-racemizáción alapuló módszerünkkel kapott hitelesítő görbék alkalmazhatóságát történeti időből származó fogmintákon is kipróbáltuk. Harminckilenc férfitől és 26 nőtől származó fogmintát analizáltunk. A Kereki-Homokbánya avar temetőből származó egyének életkorát a fent említett antropológiai módszerekkel előzetesen megbecsültük. Az antropológiai módszerekkel becsült korok átlaga és ugyanezen csontminták D/L aszparaginsav aránya, D/L glutaminsav aránya, valamint a D/L aszparaginsav alapján és D/L glutaminsav alapján számított életkorok a 5. táblázatban találhatóak. E korokat lineáris regresszióval ábrázolva a 3. ábra mutatja az összefüggést az antropológiai módszerekkel és a két D-aminosav tartalom alapján becsült életkor között. Az ábrából látható, hogy rendkívül szoros az összefüggés az antropológiai módszerekkel becsült életkor átlaga és a D-aszparaginsav tartalom alapján becsült életkor között. Az r értéke összehasonlítva az antropológiai életkorbecslés eredményeit az aminosav-racemizáción alapuló életkorbecslés eredményeivel mindkét aminosav esetében meghaladta a 0,9-et.

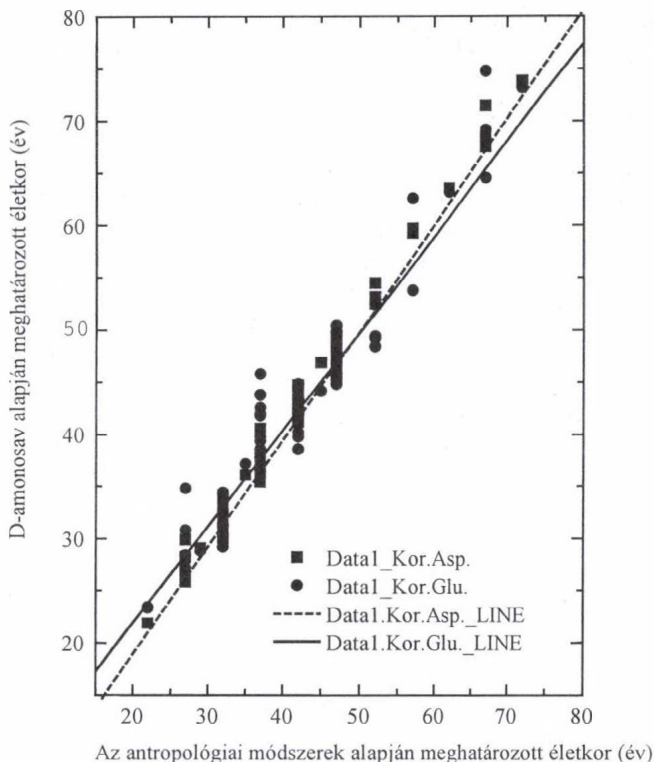
5. táblázat. Az antropológiai módszerekkel és a fogak D-aszparaginsav és D-glutaminsav tartalma alapján becsült életkor (év) összehasonlítása.

Table 5. Comparison of the life of age estimated by anthropological methods and based on D-aspartic acid and D-glutamic acid content of teeth.

Leltári- szám	Antropológiai módszerekkel becsült életkor (év)	D/L Asp	Életkor a D/L Asp alapján (év)	D/L Glu	Életkor a D/L Glu alapján (év)
Inventory No.	Age estimated by anthropological methods (year)		Age estimated by D-aspartic acid content (year)		Age estimated by D-glutamic acid content (year)
FÉRFIAK – MALES					
94.1.1.	35–39	0,0429	36,8	0,0193	38,6
94.1.3.	30–34	0,0379	32,5	0,0163	32,6
94.1.4.	30–34	0,0365	31,3	0,0157	31,4
94.1.6.	45–49	0,0541	46,4	0,0249	49,8
94.1.7.	30–34	0,0354	30,3	0,0152	30,4
94.1.11.	25–29	0,0349	29,9	0,0142	28,4
94.1.13.	40–44	0,0499	42,7	0,0201	40,2
94.1.22.	45–49	0,0573	49,1	0,0252	50,4
94.1.24.	45–49	0,0546	46,8	0,0229	45,8
94.1.26.	30–34	0,0352	30,2	0,0149	29,8
94.1.29.	30–34	0,0383	32,8	0,0172	34,4
94.1.44.	35–39	0,0419	35,9	0,0199	39,8
94.1.46.	50–54	0,0636	54,5	0,0262	52,4
94.1.47.	40–44	0,0512	43,9	0,0199	39,8
94.1.48.	40–44	0,0493	42,2	0,0224	44,8
94.1.55.	35–39	0,0427	36,6	0,0193	38,6
94.1.57.	40–44	0,0499	42,8	0,0217	43,4
94.1.58.	35–39	0,0432	37,0	0,0191	38,2
94.1.60.	25–34	0,0340	29,1	0,0144	28,8
94.1.77.	65–69	0,0799	68,5	0,0346	69,2
94.1.78.	35–39	0,0421	36,1	0,0183	36,6
94.1.86.	30–34	0,0367	31,5	0,0164	32,8
94.1.87.	40–44	0,0522	44,7	0,0193	38,6
94.1.99.	30–34	0,0399	34,2	0,0151	30,2
94.1.107.	65–69	0,0834	71,5	0,0323	64,6
94.1.108.	70–74	0,0863	73,9	0,0366	73,2
94.1.110.	45–49	0,0532	45,6	0,0227	45,4
94.1.111.	50–54	0,0613	52,5	0,0242	48,4
94.1.113.	35–39	0,0417	35,7	0,0182	36,4
94.1.115.	35–39	0,0442	37,8	0,0213	42,6
94.1.116.	50–54	0,0621	53,2	0,0247	49,4
94.1.119.	35–39	0,0474	40,6	0,0209	41,8
94.1.129.	45–49	0,0535	45,8	0,0234	46,8
94.1.133.	40–44	0,0481	41,2	0,0209	41,8
94.1.141.	40–49	0,0547	46,9	0,0221	44,2
94.1.143.	30–34	0,0357	30,6	0,0156	31,2

5. táblázat folytatása

Leltári- szám	Antropológiai módszerekkel becsült életkor (év)	D/L Asp	Életkor a D/L Asp alapján (év)	D/L Glu	Életkor a D/L Glu alapján (év)
Inventory No.	Age estimated by anthropological methods (year)		Age estimated by D-aspartic acid content (year)		Age estimated by D-glutamic acid content (year)
FÉRFIGYAK – MALES					
94.1.144.	25–29	0,0329	28,2	0,0136	27,2
94.1.150.	30–34	0,0397	34,0	0,0171	34,2
94.1.155.	55–59	0,0692	59,3	0,0313	62,6
NŐK – FEMALES					
94.1.8.	20–24	0,0256	21,9	0,0117	23,4
94.1.14.	45–49	0,0565	48,4	0,0234	46,8
94.1.17.	50–54	0,0613	52,5	0,0246	49,2
94.1.21.	35–39	0,0413	35,4	0,0197	39,4
94.1.27.	35–39	0,0446	38,2	0,0209	41,8
94.1.32.	35–39	0,0444	38,0	0,0193	38,6
94.1.43.	40–44	0,0519	44,4	0,0210	42,0
94.1.51.	45–49	0,0557	47,7	0,0224	44,8
94.1.63.	25–29	0,0312	26,7	0,0154	30,8
94.1.65.	35–39	0,0432	37,0	0,0229	45,8
94.1.92.	35–39	0,0413	35,4	0,0189	37,8
94.1.94.	30–34	0,0357	30,6	0,0156	31,2
94.1.112.	65–69	0,0798	67,6	0,0374	74,8
94.1.117.	55–59	0,0697	59,7	0,0269	53,8
94.1.118.	35–39	0,0473	40,5	0,0210	42,0
94.1.122.	35–39	0,0444	38,0	0,0219	43,8
94.1.123.	35–39	0,0417	35,7	0,0179	35,8
94.1.127.	30–39	0,0421	36,1	0,0186	37,2
94.1.130.	30–34	0,0381	32,6	0,0163	32,6
94.1.132.	30–34	0,0373	32,0	0,0148	29,6
94.1.138.	30–34	0,0357	30,6	0,0146	29,2
94.1.140.	35–39	0,0421	36,1	0,0179	35,8
94.1.142.	30–34	0,0387	33,2	0,0151	30,2
94.1.146.	25–29	0,0302	25,9	0,0174	34,8
94.1.148.	60–64	0,0742	63,6	0,0316	63,2
94.1.152.	35–39	0,0473	40,5	0,0219	43,8



3. ábra: Lineális regresszió az antropológiai módszerekkel és a D-aminosav tartalom alapján becstelt életkor között.

Fig. 3: Linear regression between the age of life estimated by anthropological methods and D-amino acid content

Összefoglalás

A szerzők módszert dolgoztak ki az egyén korának becslésére a fogban lévő D-aszparaginsav, illetve D-glutaminsav mennyisége alapján. Huszonnégy darab 17–86 év közötti korú fog analízise után hitelesítő görbét szerkesztettek, amelynek során a D/L arányokat, illetve a $\ln(1+D/L)/(1-D/L)$ összefüggést ábrázolták a kor függvényében. Ezeket a hitelesítő görbéket alkalmazták egy avar kori temetőből származó 65 ismeretlen életkorú felnőtt egy-egy fogának analízisére, melynek során rendkívül szoros egyezést kaptak az antropológiai módszerekkel becsült és az általuk becsült életkor között. Megállapították, hogy rendkívül szoros az egyezés az aminosav-racemizáció alapuló kémiai és az antropológiai módszerekkel becsült életkor között. Arra a következtetésre jutottak, hogy az aszparaginsav az általuk alkalmazott analitikai módszerekkel alkalmas az egyén korának becslésére, valamint az aszparaginsav mellett – amennyiben kellően érzékeny analitikai módszer áll rendelkezésre – a D-glutaminsav is jól használható az egyén korának becslésére. A D-glutaminsav életkorbecslésbe való bevonásával a módszer megbízhatóságát javítani lehet. Ugyanakkor ha jelentős az eltérés a két módszerrel kapott eredmény között, az felhívhatja a figyelmet a vizsgáló által elkövetett hibákra.

Az aminosav-racemizáción alapuló életkorbecslő módszer antropológiai alkalmazásának jelentősége az alábbi pontokban foglalható össze.

1. Az aminosav-racemizációs vizsgálatokhoz egy fog, sőt zománcot tartalmazó fogtörredék is elegendő. Ez különösen hasznos a rossz megtartottságú egyének vizsgálatánál.

2. Az aminosav-racemizáción alapuló életkorbecslő módszer egzakt természettudományos alapon nyugszik, használata egyértelmű, ezért alkalmazása gyakorlatilag intra- és interperszonális hiba mentes.

3. Az aminosav-racemizáció a legnehezebben becsülhető életkorú felnőtt korosztály tagjainak életkorbecsléséhez nyújt segítséget.

4. Az aminosav-racemizáció alapján kidolgozott életkorbecslő módszer eredményei jól korrelálnak a többi „klasszikus” antropológiai módszer eredményeivel, együttesen használva erősítik egymás eredményeit.

5. A módszer elvi megfontolásokból különbözik az összes a történeti embertanban rutinszerűen alkalmazott életkorbecslő módszertől. Azoktól eltérően nem a szervezet genetikailag programozott fejlődését, illetve a környezettel szembeni válaszadását, fiziológiai adaptációját veszi figyelembe, hanem az aminosavak életkörülményektől és genetikai adottságtól független szerkezetváltozását. Az aminosav-racemizáció tulajdonképpen a kronológiai idő múlását méri, nem a biológiaiét, ezzel teljesen új értelmezést ad a történeti antropológiában alkalmazott életkor szakkifejezésnek.

*

Munkánkat a T-25023, az F-026099 és az F-020133 számú OTKA pályázatok segítségével készítettük el.

Irodalom

- Bada, L., Brown, S.E. (1980): Amino acid racemization in living mammals: biochronological applications. *Trends in Biochemical Sciences*. September. 3–5.
- Bernert, Zs. (1996a): Paleodemográfiai adatok a Kereki-Homokbánya temető népességéről. In: Farkas, Gy., Pálfi, Gy. (Eds) *Honfoglaló magyarság - Árpád kori magyarság*. Szeged, p. 179–188.
- Bernert, Zs. (1996b): *A Kereki-homokbánya avarkori temető paleodemográfiai és paleosztomatológiai vizsgálata*. Kézirat. ELTE Embertani Tanszék, Budapest, 1–91.
- Csapó, J., Némethy, S., Folestad, S., Tivesten, A., Martin, T.G., Csapó-Kiss, Zs. (1994): Age determination based on amino acid racemization. A new possibility. *Amino Acids*, 7: 317–325.
- Csapó, J., Csapó-Kiss, Zs., Wágner, L., Táló, T., Martin, T.G., Némethy, S., Folestad, S., Tivesten, A. (1997): Hydrolysis of proteins performed at high temperatures and for short times with reduced racemization, in order to determine the enantiomers of D- and L-amino acids. *Analytica Chimica Acta*, 339: 99–107.
- Csapó, J., Csapó-Kiss, Zs., Csapó, J.Jr. (1998): Use of the amino acids and amino acid racemization for age determination in archaeometry. *Trends in Analytical Chemistry*, 17(3): 140–148.
- Einarrson, S., Folestad, S., Josefsson, B. (1987): Separation of amino acid enantiomers using precolumn derivatization with o-phthalaldehyde and 2,3,4,6,-tetra-O-acetyl-1-thio-β-D-glucopyranoside. *J. Liquid Chrom.* 10: 1589–1596.
- Éry, K. (1992): *Útmutató a csontvázletek feldolgozásához (Posztgraduális szakképzés jegyzete)*. Kézirat. ELTE Embertani Tanszék, Budapest. 1–44.
- Farkas, Gy. (1972): *Antropológiai praktikum I.* JATE, Szeged. 41–42.

- Fu, S.J., Fan, C.C., Song, H.W., Wei, F.Q. (1995): Age estimation using a modified HPLC determination of ratio of aspartic acid in dentin. *Forensic Science Int.*, 73; 35–40.
- Gillard, R.D., Pollard, A.M., Sutton, P.A., Whittaker, D.K. (1990): An improved method for age at death determination from the measurement of D-aspartic acid in dental collagen. *Archaeometry*, 32. 1; 61–70.
- Helfman, P.M., Bada, J.L. (1975): Aspartic acid racemization in tooth enamel from living humans. *Pro. Nat. Acad. Sci. USA*, 72(8); 2891–2894.
- Helfman, P.M., Bada, J.L. (1976): Aspartic acid racemisation in dentine as a measure of ageing. *Nature*, 262; 279–281.
- Iscan, M.Y., Loth, S.R., Wright, R.K. (1984): Age estimation from the rib by phase analysis: White Males. *J. Forensic Sciences*, 29; 1094–1104.
- Költő, L. (1988): Kereki-Homokbánya. *Rég. Füz.*, 41; 52–53.
- Költő, L. (1991): Kereki-Homokbánya. *Rég. Füz.*, 42; 61.
- Lamendin, H., Baccino, E., Humbert, J.F., Tavernier, J.C., Nossintchouk, R.M., Zerilli, A. (1992): A Simple Technique for Age Estimation in Adult Corpses: The Two Criteria Dental Method. *Journal of Forensic Sciences, JFSCA*, 37(5); 1373–1379.
- Nemeskéri, J., Harsányi, L., Acsádi, J. (1960): Methoden zur Diagnose des Lebensalters von Skelettfunden. *Anthrop. Anzeiger*, 24; 103–115.
- Martin, R., Saller, K. (1957): *Lehrbuch der Anthropologie II*. Jena. pp. 579–1182.
- Meindl, R.S., Lovejoy, C.O. (1985): Ectocranial Suture Closure: A Revised Method for the Determination of Skeletal Age at Death Based on the Lateral–anterior Sutures. *Am. J. Phys. Anthrop.*, 68; 57–66.
- Ohtani, S., Yamamota, K. (1992): Estimation of age from a tooth by means of racemization of an amino acid, especially aspartic acid - Comparison of enamel and dentin. *J. Forensic Sciences*. 37(4); 1061–1067.
- Ohtani, S. (1994): Age estimation by aspartic acid racemization in dentin of deciduous teeth. *Forensic Science International*, 68; 77–82.
- Ritz, S., Shütz, H.W., Peper, C. (1993): Postmortem estimation of age at death based on aspartic acid racemization in dentin. Its applicability for root dentin. *Int. J. Legal Medicine*, 105; 289–293.
- Ritz, S., Stock, R., Schütz, H.W., Kaatsch, H.J. (1995): Age estimation in biopsy specimens of dentin. *Int. J. Legal Medicine*, 108; 135–139.
- Szikossy, I., Bernert, Zs. (1996): A Kereki-Homokbánya temető paleosztoematológiai vizsgálata. In: Farkas, Gy., Pálfi, Gy. (Eds) *Honfoglaló magyarság - Árpád kori magyarság*. Szeged. p. 189–198.
- Ubelaker, D.H. (1989): *Human Skeletal Remains, Excavation, Analysis, Interpretation*. Taraxacum, Washington.

Levelezési cím: Csapó János
 Mailing address: Kaposvári Egyetem, Állattudományi Kar
 Biokémiai és Élelmiszerkémiai Tanszék
 H-7400 Kaposvár, Guba S. u. 40.
 Hungary

Bernert Zsolt
 Magyar Természettudományi Múzeum, Embertani Tár
 H-1082 Budapest, Ludovika tér 2.
 Hungary

