

Az aminosavak racemizációján alapuló korbecslés alkalmazása egy magyarországi és egy erdélyi mamutcsont és -agyar korának meghatározására

^{1,2}CSAPÓ JÁNOS, ¹ALBERT CSILLA, ¹SALAMON SZIDÓNIA, ³DARVAS LÓRÁNT,
⁴KOVÁCS JÁNOS, ¹SALAMON ROZÁLIA, ¹ALBERT BEÁTA & ²CSAPÓNÉ KISS ZSUZSANNA

¹Sapientia Hungarian University of Transylvania, Campus of Csíkszereda
530104 Csíkszereda, Szabadság tér 1., Romania, e-mail: albertcsilla@sapientia.siculorum.ro; ww.emte.ro

²University of Kaposvár, Faculty of Animal Science, Institute of Chemistry,
Department of Biochemistry and Food Chemistry H-7400 Kaposvár, Guba S. u. 40., Hungary,
e-mail: csapo@ke.hu; www.atk.u-kaposvar.hu

³Csíki Székely Museum, Csíkszereda, Decembéri Forradalom u. 34., Romania

⁴University of Pécs, Faculty of Natural Science, Department of Geology, H-7633 Pécs, Ifjúság u. 6., Hungary

CSAPÓ, J., ALBERT, CS., SALAMON, SZ., DARVAS, L., KOVÁCS, J., SALAMON, R., ALBERT B. & CSAPÓNÉ KISS, ZS.:
Use of amino acid racemization for age determination of two mammoth's tusk and bone from Hungarian and Transylvanian regions.

Abstract: After developing protein hydrolysis method with low racemization, a method has been developed to determine the age of fossil bone samples based on amino acid racemization (AAR). Approximately one hundred fossil bone samples of known age from Hungary were collected and analysed for D- and L-amino acids. As the racemization of amino acids is affected by temperature, pH, metal content of the soil, and time passed since death, these factors were eliminated by comparing the estimated age to age determined by the radiocarbon method. Determining the D- and L-amino acid contents in samples of known age, determining the half life of racemization and plotting the D/L ratio as a function of time, calibration curves were obtained. These curves can be used for the age estimation of samples after determining their D- and L-amino acid content. The D/L ratio for 2 to 3 amino acids was determined for each sample and the mean value of estimated ages based on calibration curves was considered to estimate age of the fossil samples.

After developing the age determination method, we have determined the age of woolly mammoth (*Mammuthus primigenius*) remains found near Pécs in Hungary, and near Csíkszereda in Transylvania by a method based on amino acid racemization (AAR). The mammoth skeletal remnants were found in fine-grained yellow, clayey loess of late glacial aeolian origin. Calibration curves – D- and L-amino acid ratios of bones of known age determined by radiocarbon method as a function of age – earlier used for age determination of human bones, was employed in case of the mammoth tusk (Csíkszereda), and mammoth tusk as well as mammoth cranial-bone (Pécs). As the racemization of the amino acids is considerably affected by the pH and heavy metal concentration of the environment, therefore we examined the composition and micro element concentration of the soil. It was established that the pH of the loess (7.14 Csíkszereda; 7.77 Pécs) did not affect substantially the racemization of the amino acids, therefore the AAR method is suitable for determination of age of these samples. D-allo-le contents of the samples were measured by INGOS AAA 400 amino acid analyzer, using postcolumn derivatization with ninhydrin, while D- and L-Asp, -Glu and -Ala contents were measured by MERCK Hitachi LaChrom high performance

liquid chromatograph using precolumn derivatization with OPA/TATG. Crude protein contents of mammoth tusk from Csíkszereda were measured to be 11.7%, whereas those of mammoth tusk from Pécs were measured to be only 1.13%, and those of cranial-bone from Pécs to be 8.17%. From these results the conclusion can be drawn that mammoth tusk from Csíkszereda has been preserved better. In the course of our examinations it was established that the sample practically did not contain D-allo-Ile, thus this amino acid cannot be used for the age estimation. In the D-amino acids it was established that for Glu and Ala the D/L ratios were below 0.1, therefore based on our earlier results we could not use these data in age determination. The amount of D-Asp was appropriate, nearly optimal in all three samples. Based on the D/L-Asp ratio of the mammoth tusk from Csíkszereda measured to be 0.229, using our calibration curve we could estimate the age of the tusk to be 9460±470 years. D/L-Asp ratio of the mammoth tusk from Pécs was measured to be 0.247, while that of the cranial-bone to be 0.241, thus based on the tusk the age could be estimated to be 10200±500 years, based on the cranial-bone to be 9960±500 years. The difference between the tusk and the bone is 240 years, which is within the error limit of the method.

Keywords: woolly mammoth, tusk, bone, amino acids, ion exchange column chromatography, IEC, high performance column chromatography, HPLC, analytical methods, age determination, racemization of amino acids.

Bevezetés

Korábban (CSAPÓ és mtsai 1994, 1997, 1998, 2004; ALBERT és mtsai 2006) az izoleucin epimerizációját és a többi fehérjealkotó aminosav racemizációját felhasználva módszert dolgoztunk ki fossziliák korának meghatározására. Az általunk kidolgozott, aminosav racemizáción, illetve epimerizáción alapuló kor meghatározási módszer egy olyan vizsgálat, melyet Magyarországon és Romániában – tudomásunk szerint – még senki sem alkalmazott, a fehérjealkotó aminosavak többségét pedig mi használtuk fel elsőként a világon – csoportosan – kor meghatározásra. A D-allo-izoleucin és a „lassú” racemizációs idejű aminosavakkal a 100.000–450.000 év közti fehérjetartalmú régészeti leletek, a „gyors” és „közepes” racemizációs idejű aminosavak segítségével

pedig az 5000–100.000 év közötti csontleletek korát tudtuk az analitikai módszer hibahatárának (D-allo-izoleucin esetében 3%, a többi aminosav esetében 5–10%) meghatározni. Az izoleucin és a D-allo-izoleucin meghatározására az ioncserés oszlopkromatográfia elvén működő aminosav-analizátort, a D- és az L-aminosavak szétválasztására és meghatározására pedig a nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiát alkalmaztuk. E módszerekkel meghatároztuk egy Erdélyben és egy Dél-Magyarországon talált gyapjas mamut korát. Közleményünkben ezekről a vizsgálatokról szeretnénk beszámolni.

Anyag és módszer

A pécsi mamutmaradvány környezetének ismertetése

A gyapjas mamut (*Mammuthus primigenius*) csontváza Magyarországon több helyen előkerült, ami azt bizonyítja, hogy ezek az állatok jelentős számban fordultak elő pár tízezer évvel ezelőtt Magyarország területén. Az általunk vizsgált csontok a Zók-Szőlőhegyi löszmelyútból kerültek elő, melynek falában a felszínhez közeli rétegben feküdt a lelet. Mivel a koponyacsont, az agyarpár, illetve az őrlőfogak ugyanarról a helyről kerültek elő, feltételezhető, hogy az állat az elhullás helyén temetődött be, illetve konzerválódott az utókor számára. Az üledékbe zárt csontmaradványból a foszforosavas mésztartalom nagy része kioldódott, melynek következtében a csontok könnyűvé, porózussá váltak. A lelet elég rossz állapotban maradt fent, mert a feltárás idejében a csontokat borító üledék vastagsága alig érte el az egy métert, ezért ez a réteg nem tudta teljes mértékben megvédeni a maradványokat a mechanikai és a kémiai hatásoktól. Ugyancsak rontotta a lelet állapotát a felszínen található dús vegetáció, melynek gyökérrendszere egyrészt mechanikai roncsolódást idézett elő, másrészt megváltoztatta a lelet kémiai összetételét is. Figyelembe véve, hogy a lelet emberi tevékenységnek is ki volt téve, kijelenthető, hogy a fosszilizálódás adottságai nagyon kedvezőtlenek voltak. A lelőhely löszanyaga mészben igen gazdag volt, ezért a kőületeket 2–17 mm vastagságú mészkeveg vette körül. Az általunk vizsgált agyarak közül a baloldali agyar teljesebb, míg a jobboldali töredékesebb állapotban őrződött meg. Az agyarak egymást keresztezték, melynek során a jobboldali agyar proximális vége a koponyacsont fragmentumok közelében, a befogadócsontban feküdt, míg a baloldali agyar a koponyacsonttól távolabb, a jobboldali agyar alatt, distális végével a koponyacsont irányában fordult. A koponyacsontok többsége porózus és rossz megtartású volt, a néhány épségben megmaradt töredékből a koponyát szinte lehetetlen volt rekonstruálni.

A csíkszeredai mamutmaradvány környezetének ismertetése

A maradványok fellelésének körülményeiről, ill. a maradványok tárolásáról és konzerválásáról semmit nem tudunk. Jelenleg a maradványok a Csíki Székely Múzeumban találhatóak.

Az alkalmazott analitikai módszerek

A minták előkészítése. Az agyar- ill. csontmintából száraz tisztítással és mosással távolítottuk el a föld, talaj és egyéb szennyeződések. Ezt követően szobahőmérsékleten szárítottuk, őröltük majd homogenizáltuk. A mintát 0,1 mólos sósavval szuszpendáltuk, és a fehérje bomlásából keletkezett aminosavakat kioldottuk a mintából. Szűrés után a szabadaminosav-tartalmú frakciót hűtőszekrényben tároltuk, a fehérjét tartalmazó szűrési maradékot megszáritottuk, majd ismételtlen homogenizáltuk. A nyersfehérje-tartalmat Kj-el-Tec típusú gyors nitrogénelemzővel határoztuk meg, majd a fehérjét 6 M-os sósavval 110 °C-on 24 órán át hidrolizáltuk. A hidrolízis befejeztével a sósavat liofilezással eltávolítottuk a mintából, majd a vizes feloldás során kivált szilikátokat centrifugálással választottuk el a szabadaminosav-tartalmú folyadéktól. Az oldat pH-ját tömény nátrium-hidroxiddal pH=9-re állítottuk be, majd a kivált kalcium- és magnézium-, valamint nehézfém-só-hidroxidokat szűréssel vagy ismételt centrifugálással különítettük el a szabad aminosavaktól. A hidroxidok eltávolítása után a pH-t azonnal 6 és 7 közé állítottuk be, majd az így kapott oldatot szárazra pároltuk liofilezással. A kapott anyag már készen áll a D- és L-aminosavak, valamint az izoleucin és a D-allo-izoleucin meghatározására.

Az aminosavak analízise. Az izoleucin és a D-allo-izoleucin meghatározása INGOS AAA 400 típusú automatikus aminosav-analizátorral történt. Az α -aminosav enantiomereket o-ftálaldehiddel (OPA) és az optikailag aktív 2,3,4,6-tetra-O-acetil-1-tio- β -D-glükopiranoziddal történő származékképzés után fordított fázisú folyadékkromatográfiával határoztuk meg. A származékképzés során a reakció szobahőmérsékleten néhány perc alatt lejártsódik, és a kapott származékok igen stabilak. A képzett diasztereomerek szelektivitása – a lizin és az ornitin kivételével – különösen jónak mondható. A származékok fluoreszcenciás gerjesztési és emissziós maximuma 342 és 410 nm volt. A kimutathatóság határa az aminosavak többségére fluoreszcens detektor esetén 2 pmol, elektro-kémiai detektor esetén pedig 1 pmol volt.

Hitelesítő görbe a kormeghatározáshoz

Az analitikai módszerek kiválasztása és kidolgozása, valamint a felmerülő hibák korrigálása után lehetett hozzáfogni a különböző régészeti leletek kormeghatározásához. Az aminosavak racemizációján alapuló módszernél különös tekintettel kell lenni a hőmérsékletre, azokra a hőmérsékleti viszonyokra, melyen a minta keresztülment az élő szervezet pusztulása után napjainkig. Mivel az évezredek alatt végbemenő hőmérsékleti változásokat, hőmérsékleti ingadozásokat csak közelítőleg ismerjük, csak becsülni tudjuk a racemizációs (ill. epimerizációs) folyamat során a reakció hőmérsékletét, annak pontos meghatározására (egy- vagy többes viszonyoktól eltekintve, pl. az óceán mélye) nincs lehetőség. E tényből kiindulva kellett megoldást keresni arra, hogy az ismeretlen minta összetételét valamilyen módon egy más (abszolút) kormeghatározási módszerrel megismert korú minta összetételéhez lehessen ha-

sonlítani, ügyelve arra, hogy az ismert és az ismeretlen korú minta lehetőleg azonos vagy igen hasonló előéletű legyen. A legfontosabb szempont az volt, hogy a minta milyen talajmélységből (hőmérséklet) és milyen talajtípusból (pH) került elő, hiszen a racemizációs folyamatokat elsősorban a hőmérséklet és a pH befolyásolja. Fentiek miatt Magyarország különböző múzeumaiból összegyűjtöttünk mintegy 150 db emberi csontmintát, melyeknek korát előzetesen radiokarbon módszerrel meghatározták. A mintegy 150 db, radiokarbon

módszerrel már meghatározott korú csontmintából 24 analíziseinek eredményeit hat D- és L-aminosavra az 1. táblázat tartalmazza. Ez a hat aminosav felöleli azt a tartományt, amelyben az aminosavak racemizációját ill. epimerizációját alkalmazni lehet a kor meghatározásra, hisz tartalmazza a leggyorsabban (His, Phe) és a leglassabban (Ile, Val) racemizálódó aminosavakat. A többi vizsgált aminosavat az áttekinthetőség kedvéért a táblázat nem tartalmazza.

1. táblázat: A radiokarbon korhoz tartozó D/L-aminosav arányok

A minta kora radiokarbon módszerrel (év)	Az aminosavak D/L aránya						
	His	Phe	Asp	Glu	Ala	Ile	Val
2200	0,138	–	–	–	–	–	–
2800	0,162	0,101	–	–	–	–	–
3110	0,181	0,109	–	–	–	–	–
3240	0,199	0,128	–	–	–	–	–
4630	0,253	0,179	0,109	–	–	–	–
5460	0,312	0,225	0,128	–	–	–	–
6850	0,419	0,252	0,171	0,091	–	–	–
11.200	0,618	0,442	0,271	0,126	0,112	–	–
12.400	0,682	0,473	0,289	0,143	0,131	–	–
15.600	–	0,561	0,378	0,178	0,158	–	–
18.600	–	0,654	0,432	0,209	0,192	–	–
20.200	–	0,689	0,491	0,233	0,209	–	–
22.600	–	–	0,543	0,256	0,228	–	–
25.400	–	–	0,580	0,275	0,246	–	–
28.600	–	–	0,621	0,311	0,289	–	–
30.400	–	–	0,643	0,325	0,321	–	–
32.500	–	–	0,702	0,355	0,343	0,099	–
36.900	–	–	–	0,395	0,381	0,118	–
44.600	–	–	–	0,481	0,465	0,134	–
46.800	–	–	–	0,500	0,483	0,142	–
54.300	–	–	–	0,527	0,510	0,169	0,100
62.200	–	–	–	0,606	0,586	0,198	0,115
65.000	–	–	–	0,634	0,613	0,199	0,119
72.400	–	–	–	–	0,652	0,221	0,136

A táblázat adataiból látható, hogy az Asp az 5000–35.000 év, a D-allo-izoleucin pedig a 30.000 év feletti minták korának meghatározására alkalmazható. A táblázat adataiból szerkesztett kalibrációs görbéket szemlélve megállapítható, hogy mindegyik görbe gyakorlatilag lineárisnak tekinthető a 0,1–0,5 D/L arány között, és ez a szakasz adja a legpontosabb eredményt a kormeghatározásra, hisz itt a D-aminosav megfelelő, jól mérhető koncentrációban van jelen. A hitelesítő görbe 0,5 után kezd el görbülni, és ez a görbület 0,6 D/L arány fölött már bizonytalanná teszi a meghatározást.

Miután megismertük a különböző korú csontminták D/L-aminosav arányának időfüggését, a módszer alkalmassá vált a hitelesítő görbét alkotó mintákhoz hasonló körülmények közül származó ismeretlen korú csontminta korának meghatározására. A hitelesítő görbe D/L aminosav arányát hasonlítva az ismeretlen minta D/L aminosav arányához, a minta kora a hitelesítő görbéről leolvasható. Egy ismeretlen minta esetében 2–3 aminosavat használunk fel a kormeghatározásra, majd végül a különböző aminosavak alapján kapott korokat átlagolva kapjuk meg az ismeretlen minta korát. Mindegyik mintára meg lehet azonban találni azt az optimális D/L arányt, amely a legjobb eredményt adja a korra. A többi aminosav segítségével meghatározott kor az optimális D/L arányból számolt eredményeket megerősítheti, vagy esetleg megkérdőjelezheti. Elvégezve a kapott adatok statisztikai analizését a csontminta ismert korát (Y) a D/L arányra (X_1) ill. az $\ln[(1+D/L)/(1-D/L)]$ (X_2)-re vonatkoztatva olyan egyenleteket kaptunk ($Y = a + bX$), melyekkel a korbecslés elvégezhető.

Módszerünket sikerrel alkalmaztuk Magyarországról származó csontminták esetén. A radiokarbon módszerrel és a kalibrációs görbéinkkel meghatározott korok közti különbség elhanyagolható volt. Minden esetben nagyon óvatosan jártunk el mind a minta előkészítésénél, mind a hitelesítő görbe alkalmazásánál; ügyeltünk arra, hogy az ismeretlen minta eredete hasonló legyen ahhoz, mint amikből a hitelesítő görbét megszerkesztettük, valamint vigyáztunk arra, hogy az előkészítés lépései is teljesen hasonlóak legyenek. Tisztában vagyunk a módszer gyenge pontjaival, és azzal, hogy a módszer terhelt a radiokarbon módszer hibájával. Eredményeink mégis bizonyítják a módszer használhatóságát, megbízhatóságát. Módszerünket csak nagyon óvatosan és fenntartással javasoljuk alkalmazni más környezeti körülmények között (hőmérséklet, pH, talajösszetétel), hisz ott mások a racemizációs viszonyok. Javasoljuk azonban, hogy eredményeinkre alapozva dolgozzon ki mindenki a saját környezetének megfelelő kalibrációs görbéket, ha az aminosav racemizáción alapuló kormeghatározást egyrészt alkalmazni akarja, másrészt pontosabbá akarja tenni.

Amennyiben azonban megelégszünk a közelítő koral, vagy mindenképpen szükségünk van valamiféle, ha nem is túl pontos, de közelítő eredményre, az általunk kapott hitelesítő görbéket, a vázolt kompromisszumok szerint, másra, pl. mamutmaradványra is lehet alkalmazni.

A makro- és mikroelem-tartalom meghatározása

A makro- és mikroelemeket SOLAAR M6 típusú atomabszorpciós spektrofotométerrel határoztuk meg. A talajminták esetében a talajból kioldódott makro- és mikroelemeket analizáltuk. Az agyar és a csontminták esetében a 450 °C-on 8 órán keresztül izzított minta hamujának salétomsavas oldatából végeztük az analízist. A talajnál azért nem végeztünk izzítást, mert valójában nem a talaj makro- és mikrolemeire voltunk kíváncsiak, hanem arra, hogy a talajból a csapadékvíz milyen makro- és mikroelemeket tudott a vizsgálati mintákhoz eljuttatni.

Eredmények és értékelés

Az agyarak, a csont és a környező talaj pH-ja, valamint makro- és mikroelem-tartalma

Az aminosav racemizáción (AAR) alapuló kormeghatározást jelentős mértékben befolyásolja a minta előélete, elsősorban a talaj pH-ja, valamint mikroelemkoncentrációja. Amennyiben a környezet pH-ja lúgos, az aminosav racemizáción alapuló kormeghatározást nem lehet alkalmazni, mert a lúgos környezet meggyorsítja az aminosavak racemizációját, és a vizsgált mintát idősebbnek mutatja koránál. A kormeghatározás szempontjából előnyös a semleges vagy gyengén savanyú pH. 9,0 feletti pH esetében az AAR-módszert kormeghatározásra, illetve korbecslésre nem lehet alkalmazni, a túlzottan alacsony pH pedig a csont állagának a romlásához vezet, melynek következtében a talajból sok szennyező anyag juthat be a csont mátrixába, ami a meghatározás eredményeit meghamisíthatja. Fentiek miatt először a mamutagyarak, illetve csont körüli talajt analizáltuk nézve azt, hogy a minta előélete megfelel-e az előbb leírt követelményeknek. Megállapítottuk, hogy a talaj pH-ja 7,14 (Csíkszereda), illetve 7,77 (Pécs), ami még éppen megfelel a kívánalmaknak. A vizsgált minták állaga jó megtartású volt, ezért bízhatunk abban is, hogy a talajból az eredményeket meghamisító szennyeződések nem mosódtak be abba.

A makro- és mikroelemek közül elsősorban a réz, cink, mangán és a vas, ami befolyással lehet az aminosavak racemizációjára. E négy mikroelemen túl még vizsgáltuk a talaj kalcium-, magnézium-, foszfor-, nátrium- és káliumtartalmát is. Megállapítottuk, hogy sem a csíkszeredai sem a pécsi talajban nem található foszfor, vagy mennyisége oly kicsi, hogy az nem lehet hatással a racemizációra. A csíkszeredai talajminta Ca-tartalmát 287,5, a pécsi talajét 179,0 mg/kg-nak, Mg-tartalmát 6,7, illetve 40,5 mg/kg-nak, K-tartalmát 10,1 illetve 2,6 mg/kg-nak, Na-tartalmát pedig 9,7, illetve 112,5 mg/kg-nak mértük. A csíkszeredai talaj Mn-tartalmát 0,04, a pécsi talajét 0,02 mg/kg-nak, Cu-tartalmát 0,06, illetve 0,06 mg/kg-nak, Zn-tartalmát 0,04 mg/kg-nak, illetve a pécsi talajban nem volt kimutatható mennyiségben, Fe-tartalmát pedig 1,1, illetve 2,3 mg/kg-nak mértük.

A talajoldat analízise után leszűrhetjük azt a következtetést, hogy a makro- és mikroelem-tartalom egyik minta esetében sem befolyásolta lényegesen a

racemizációt, tehát talajösszetétel szempontjából a vizsgálatokat el lehet végezni. A két mamutagyar makro- és mikroelem-tartalmát a talajminták oldatával együtt a 2. táblázat tartalmazza.

A csíkszeredai mamutagyar foszfortartalmát 120,0 g/kg-nak, a pécsi mamutagyarét 106,0 g/kg-nak, a pécsi koponyacsont foszfortartalmát pedig 98 g/kg-nak mér-

nyacsont aminosav-összetételét gramm aminosav/100 g minta, és gramm aminosav/100 g fehérje mértékegységben a 3. táblázat tartalmazza.

A táblázat adataiból látszik, hogy a csíkszeredai mamutagyar nyersfehérje-tartalma 11,7%, a pécsi mamutagyaré 1,3%, a pécsi koponyacsonté pedig 8,7% volt. A nyersfehérje-tartalomból levonhatjuk azt a követke-

2. táblázat: A mamutagyarak, a koponyacsont és a körülöttük levő föld makro- és mikroelem-tartalma

Makro- és mikroelemek	A vizsgált minta				
	Csíki talaj	Csíki mamutagyar	Pécsi talaj	Pécsi mamutagyar	Pécsi koponyacsont
Hamu, %	94,2	77,2	95,0	86,1	76,9
Kalcium, g/kg	$287,5 \cdot 10^{-3}$	241,9	$179,0 \cdot 10^{-3}$	250,8	227,2
Foszfor, g/kg	*	120,0	*	106,0	98,0
Magnézium, g/kg	$6,7 \cdot 10^{-3}$	0,9	$40,5 \cdot 10^{-3}$	5,5	1,8
Kálium, g/kg	$10,1 \cdot 10^{-3}$	0,13	$2,6 \cdot 10^{-3}$	0,17	0,13
Nátrium, g/kg	$9,7 \cdot 10^{-3}$	3,0	$112,5 \cdot 10^{-3}$	2,4	1,7
Mangán, mg/kg	0,04	19,1	0,02	63,5	44,8
Réz, mg/kg	0,06	8,6	0,06	4,5	4,3
Cink, mg/kg	0,04	58,3	*	20,1	61,6
Vas, mg/kg	1,1	202,8	2,3	1476	1017

* Nem mutatható ki.

tük. Ezek az értékek kalcium esetében 241,9; 250,8, illetve 227,2 g/kg, magnézium esetében 0,9; 5,5, illetve 1,8 g/kg, a kálium esetében 0,13; 0,17 és 0,13 g/kg, a nátrium esetén pedig 3,0; 2,4, illetve 1,7 g/kg volt. A mikroelemeket elemezve megállapítottuk, hogy csíkszeredai mamutagyar mangántartalma 19,1, a pécsi mamutagyaré 63,5, a pécsi mamut koponyacsonté pedig 44,8 mg/kg volt. A réz esetében ezek az értékek sorrendben 8,6; 4,5 és 4,3 mg/kg, a cink esetében 58,3; 20,1, illetve 61,6 mg/kg, a vas esetében pedig 202,8; 1476, illetve 1017 mg/kg. A makro- és mikroelemeket értékelve megállapítható, hogy a vas kivételével a három minta nem tért el lényegesen egymástól, míg a vas esetében a pécsi minták ötször-hétszer többet tartalmaztak.

Az agyarak és a csont aminosav-összetétele, különös tekintettel a D-allo-izoleucinra

A makro- és mikroelem-tartalom analízisét követően elemeztük a minták aminosav-összetételét INGOS AAS 400 aminosav-analízátorral, melynek során elsősorban D-allo-izoleucint szerettünk volna meghatározni, és elemeztük a minták D- és L-aszparaginsav-, D- és L-glutaminsav- és D- és L-alanin-tartalmát Hitachi Merck nagyhatékonyságú folyadékromatográffal. A csíkszeredai mamutagyar, a pécsi mamutagyar és pécsi kopo-

nyacsont aminosav-összetételét gramm aminosav/100 g minta, és gramm aminosav/100 g fehérje mértékegységben a 3. táblázat tartalmazza. A táblázat adataiból látszik, hogy a csíkszeredai mamutagyar nyersfehérje-tartalma 11,7%, a pécsi mamutagyaré 1,3%, a pécsi koponyacsonté pedig 8,7% volt. A nyersfehérje-tartalomból levonhatjuk azt a követke-

tetést, hogy a csíkszeredai minta nyersfehérje-tartalma majdnem egy nagyságrenddel meghaladta a pécsiét. A pécsi koponyacsont nyersfehérje-tartalma jól közelíti a csíkszeredai mamutagyarét. A mintából D-allo-izoleucint még nyomokban sem sikerült kimutatnunk, tehát ezek a minták lényegesen fiatalabbak annál, minthogy ezt az aminosavat kormeghatározásra fel tudjuk használni. A többi aminosavat tekintve a minták között alig találtunk lényeges különbségeket. A két mamutagyar aminosav-összetétele, gramm aminosav/100 g fehérjére számolva, a glicin kivételével szinte megegyezett, és nagyon hasonló eredményt kaptunk a koponyacsont esetében is. Ezek az aminosav eredmények a kormeghatározás szempontjából nem használhatók, ezek csak a minta konzerválódásával kapcsolatban adnak információkat. Látható azonban, hogy minden esetben az aminosavak összege jó egyezést mutatott a nyersfehérje-tartalommal.

A 4. táblázat az aszparaginsav, a glutaminsav és az alanin esetében mutatja a D/L arányokat. A táblázat adataiból látható, hogy mindhárom minta esetében az aszparaginsav racemizációja lényegesen meghaladja a glutaminsavét, és a glutaminsav racemizációja is nagyobb, mint az alaniné. Ezek az eredmények teljes mértékben megegyeznek azzal, amit korábbi vizsgálataink alapján az emberi csontok analízisét követően

3. táblázat: A mamutagylarak és a koponyacsont aminosav-tartalma

Aminosavak	A vizsgált minta					
	Csíki mamutagylar		Pécsi mamutagylar		Pécsi mamut koponyacsont	
	g AS/100 g minta	g AS/100 g fehérje	g AS/100 g minta	g AS/100 g fehérje	g AS/100 g minta	g AS/100 g fehérje
Aszparaginsav	0,72	6,3	0,086	7,2	0,53	6,2
Treonin	0,23	2,0	0,037	3,1	0,18	2,1
Szerin	0,43	3,7	0,060	5,0	0,30	3,5
Glutaminsav	1,26	11,0	0,134	11,2	0,92	10,7
Prolin	1,65	14,4	0,114	9,5	1,29	15,0
Glicin	3,05	26,5	0,283	23,6	2,30	26,8
Alanin	1,28	11,1	0,122	10,2	0,97	11,3
Cisztin	0,04	0,3	0,009	0,8	0,02	0,2
Valin	0,34	3,0	0,039	3,3	0,24	2,8
Metionin	0,08	0,7	0,011	0,9	0,05	0,6
D-allo-Ile	0,00	0,0	0,000	0,0	0,00	0,0
Izoleucin	0,14	1,2	0,014	1,2	0,10	1,2
Leucin	0,39	3,4	0,029	2,4	0,26	3,0
Tirozin	0,03	0,3	0,003	0,3	0,02	0,2
Fenilalanin	0,25	2,2	0,028	2,3	0,18	2,1
Lizin	0,45	3,9	0,043	3,6	0,34	4,0
Hisztidin	0,09	0,8	0,018	1,5	0,06	0,7
Arginin	0,99	8,6	0,117	9,8	0,78	9,1
Triptofán	-	-	-	-	-	-
Ammónia	0,07	0,6	0,052	4,3	0,05	0,6
Összeg	11,49	100,0	1,199	100,2	8,59	100,1
N % x 6,25	11,7		1,3		8,7	
Szárazanyag %	92,8		93,1		89,0	

megállapítottunk. Korábbi munkáinkban rámutattunk arra is, hogy a D/L arányok csak akkor alkalmasak a vizsgált minták korának meghatározására, ha az illető D-aminosav jól mérhető koncentrációban van jelen, ahol a D/L arány meghaladja a 0,1-et. Ezen arány alatt az igen kis koncentrációban jelenlévő D-aminosav analízisének hibája oly nagy, hogy azt kormeghatározásra felhasználni nem lehet. Ezért a jelen munkában csak az

aszparaginsav D/L aránya ad biztos információt a korra, hisz a D-glutaminsav és a D-alanin oly csekély koncentrációban volt jelen, hogy a D/L arányok e két aminosav esetében bizonytalanok.

A kapott eredményeket a korábban emberi csontok vizsgálata során kapott hitelesítő görbéhez hasonlítva, illetve annak felhasználásával a csíkszeredai mamutagylar korát 9460 ± 470 évre, a pécsi mamutagylar korát

4. táblázat: A mamutagyarak és a koponyacsont D/L aszparaginsav, D/L glutaminsav és D/L alanin aránya

D/L arányok	A vizsgált minta		
	Csíki mamutagyar	Pécsi mamutagyar	Pécsi mamut koponyacsont
Aszparaginsav	0,229	0,247	0,241
Glutaminsav	0,051	0,063	0,061
Alanin	0,029	0,033	0,035

5. táblázat: A számított kor a hitelesítő görbe segítségével a D/L aszparaginsav arány alapján

Kor (év)	A vizsgált minta		
	Csíki mamutagyar	Pécsi mamutagyar	Pécsi mamut koponyacsont
D/L aszparaginsav alapján	9460	10200	9960

10.200±500 évre, míg az ugyanettől a mamuttól származó koponyacsont korát 9960±500 évre becsültük (5. táblázat). Az összehasonlítás során feltételeztük, hogy a mamutcsont szerkezetében található kollagén felépítése – az aminosavak racemizációja szempontjából – minimális eltérést mutat az emberi csontokétól, s az ebből fakadó kinetikai különbség elhanyagolható.

A pécsi minta esetében az agyar és a csont között 240 év különbséget kaptunk, ami e módszer alkalmazásával bőven a megengedhető hibahatáron belül van. Összességében tehát elmondhatjuk, hogy a pécsi mamut szinte biztosan 9500–10.500 éve járhatott a jelenlegi Baranya megye területén, míg a Csíkszeredából kapott mamutagyar alapján annak korát fél évszázaddal fiatalabbra becsüljük.

A pécsi mamut környezetében nagy számban fordultak elő szárazföldi csigák maradványai, melyek esetében szintén felvethető a héjszerkezetekbe épült aminosavak racemizációján alapuló kormeghatározás lehetősége. Ennek összevetése a fenti eredményekkel nem csupán a kormeghatározás eredményének megerősítésére lenne alkalmas, hanem az esetlegesen eltérő eredmények a betemetődés körülményeire vonatkozóan is szolgáltathatnak hasznos információkat.

Irodalom

- 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., WÄGNER L., TÁLOS 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.
- CSAPÓ J., COLLINS, M., CSAPÓ-KISS Zs., VARGA-VISI É., POHN, G. & CSAPÓ J. JR. 2004: Use of amino acids and amino acid racemization for age determination in archaeometry. – In: PÁLYI G., ZUCCHI, K. & L. CAGLIOTI (eds): *Progress in biological chirality*. Elsevier, Oxford, 65–78.
- ALBERT Cs., SALAMON R. & CSAPÓ J. 2006: Fosszilis anyagok korának meghatározása az aminosavak átalakulása és racemizációja alapján. – *A Csiki Székely Múzeum Évkönyve*. pp. 415–438.