

Archäometrische Inhaltsanalyse sog. Nachgeburtsgefäße

KURT W. ALT und FRANK MUSSHOFF

Einleitung

Nach ethnologischen und volkskundlichen Quellen erfährt die menschliche und tierische Nachgeburt in vielen Teilen der Welt eine besondere Behandlung, die rituelle Hintergründe hat. Unter den verschiedenen Brauchtumshandlungen bei der Entsorgung von Nachgeburten steht die Vergrabung an unterschiedlichsten Orten an erster Stelle. Seit den achtziger Jahren häufen sich, vor allem im Zusammenhang mit archäologisch begleiteten Stadtkerngrabungen, Funde frühneuzeitlicher Gefäße aus Kellerräumen, die mit Nachgeburtsentsorgungen in Verbindung gebracht werden. Bei ersten archäometrischen Untersuchungen zum Inhalt sog. Nachgeburtsgefäße ging es um den Nachweis von möglicherweise vorhandenen charakteristischen Steroidhormonen, die einen Hinweis auf eine Nachgeburt liefern sollten. Mittels zweidimensionaler Dünnschichtchromatographie wurden in einer Untersuchung positive Befunde für Östradiol und Östron sowie Cholesterin erhalten.¹

Zur eigentlichen Nachgeburt gehören Plazenta, Nabelstrang und Eihäute (Amnion, Chorion laeve), die für gewöhnlich ein Gewicht von etwa 500–600 g erreichen.² Die Plazenta enthält ein breites Spektrum verschiedener Hormone, von denen jedoch nur Steroidverbindungen für archäometrische Untersuchungen geeignet scheinen. An erster Stelle sind hier die Östrogen-Steroide Östron, Östradiol und Östriol zu nennen sowie das außerordentlich stabile Cholesterin. Letzteres gilt bei archäometrischen Untersuchungen üblicherweise als Leitsubstanz für nichtpflanzliche Organismen.³ Zu weiteren Steroiden der Plazenta gehören noch die Metabolite der Östrogene sowie Progesteron, Testosteron und Corticoide.

In Anlehnung an die ersten archäometrischen Untersuchungen des Inhalts von Nachgeburtsgefäßen durch WAIDELICH⁴ analysierten wir im Zusammenhang mit zwei Neufunden aus Lautenbach (Ortenaukreis) den Inhalt dieser Gefäße.

Material

Folgende Chemikalien werden für die Vorbereitung der Proben (in der Regel pro-analysis-Qualität) benötigt: zur Extraktion 25%iges Ammoniak, Diethylether, Ethylacetat, Methanol, Toluol, Natriumsulfat (wasserfrei) und 25%ige Salzsäure, für die Fließmittel (zusätzlich) Eisessig und Hexan, für das Anfärbereagenz (zusätzlich) Aqua dest. und Schwefelsäure, ferner Kieselgel-Fertigplatten (Schichtdicke 0,25 mm oder HPTLC-Qualität). Das Anfärbereagenz besteht aus 50%iger Schwefelsäure in Aqua dest. (frisch ansetzen). Die gaschromatographisch-massenspektrometrische Untersuchung erfolgt auf einem Hewlett-Packard GC Model 5890A mit 5870A Mass Selective Detector (MSD);

-
- 1 D. WAIDELICH, Archäometrische Untersuchungen an einigen ausgegrabenen Gefäßen zur Ermittlung möglicher Nachgeburtsbegrabungen (Diplomarbeit Tübingen 1989).
 - 2 K. L. MOORE/E. LÜTJEN-DRECOLL, Embryologie. Lehrbuch und Atlas der Entwicklungsgeschichte des Menschen (Stuttgart 1980).
 - 3 Vgl. R. C. A. ROTTLÄNDER/H. SCHLICHOTHERLE, Analyse frühgeschichtlicher Gefäßinhalte. *Naturwissenschaften* 70, 1983, 33–38.
 - 4 WAIDELICH (Anm. 1).

| | Probe 1 direkter Extrakt | Probe 1 basischer Extrakt (nach Hydrolyse) | Probe 2 direkter Extrakt | Probe 2 (basischer Extrakt nach Hydrolyse) |
|-------------------------|---|---|---|---|
| Cholesterin | DC: violette Anfärbung ca. 5 µg/g GC-MS: positiv | DC: violette Anfärbung ca. 2 µg/g GC-MS: positiv | DC: violette Anfärbung ca. 2 µg/g GC-MS: positiv | DC: violette Anfärbung ca. 1 µg/g GC-MS: positiv |
| Östron | neg. | neg. | neg. | neg. |
| Östradiol | neg. | neg. | neg. | neg. |
| Weitere Steroide | neg. | neg. | neg. | neg. |

Tabelle 1 Lautenbach, Petershof. Zusammenstellung der dünn-schichtchromato-graphischen und gaschromatographisch-massenspektrometrischen Ergebnisse einer Untersuchung auf Cholesterin und Steroide in Erdproben.

Fused Silica Kapillarsäule OV 1 (12 m x 0,2 mm i. D.; $df = 0,33\mu\text{m}$); Temperaturprogramm: 60 °C für 2 min., 40 °C/min. auf 100 °C, 10 °C/min. auf 300 °C für 15 min.; split/splitless Injektor bei 270 °C.

Methoden

Der Nachweis der gesuchten Substanzen gliedert sich methodisch in vier Schritte:

a) Direkte Extraktion (in Anlehnung an WAIDELICH): 10 g Erdmaterial werden in einem Schütteltrichter zweimal mit je 25 ml einer Mischung Toluol/Methanol (1 : 1) extrahiert. Die organischen Phasen werden vereinigt, mit Natriumsulfat getrocknet und am Vakuum-Rotationsverdampfer eingengt.

b) Saure Hydrolyse (in Anlehnung an DALDRUP/RICKERT⁵): 10 g Erdmaterial werden in einem fest verschlossenen Zentrifugenglas mit 10 ml Aqua dest. und 2 ml 25%iger Salzsäure versetzt und exakt 20 min. auf 120 °C erhitzt. Nach der Hydrolyse wird die Phase in Eiswasser abgekühlt und zweimal mit 10 ml Ether extrahiert. Die Etherphasen werden vereinigt, mit Natriumsulfat getrocknet und unter Stickstoff bei 50 °C eingengt. Dieser Extrakt (Phase I) enthält saure und unter den Hydrolysebedingungen entstandene neutrale Verbindungen. Die verbliebene Wasserphase wird durch Zusatz von ca. 1,5 ml Ammoniak auf pH 9 eingestellt, in einen 100 ml Scheidetrichter überführt und ca. 80 ml einer Mischung aus Ether/Ethylacetat (1 : 9) extrahiert. Der Extrakt wird mit Natriumsulfat getrocknet, am Rotationsverdampfer eingengt, unter Verwendung von Methanol als Lösungsmittel in ein Probenfläschchen überführt und erneut unter Stickstoff eingengt. Dieser Extrakt (Phase II) enthält die freien und in konjugierter Form vorliegenden basischen Verbindungen. Die Extraktreste werden jeweils in 100 µl Methanol aufgenommen und hiervon 20 µl im Rahmen einer zweidimensionalen Dünnschichtchromatographie eingesetzt.

c) Dünnschichtchromatographie (DC): Auf die Dünnschichtfertigplatten werden neben den Extrakten 10 µl eines Vergleichstests, der folgende Substanzen in einer Konzentration von 1 µg/µl enthält, aufgetragen: Cholesterin, Östron und Östradiol. Die Platten werden zunächst in einem Fließmittel aus Toluol/Methanol (10 : 1) entwickelt bis zu einer Fließhöhe von ca. 1,5 cm unterhalb des oberen Randes und anschließend durch Verdampfen unter einem Abzug getrocknet. Es folgt ein Lauf in die zweite Dimension, indem die Platte um 90° gedreht in einer zweiten Laufkammer mit einer Mi-

5 T. DALDRUP/A. RICKERT, Arzneimittel- und Drogenscreening aus Urin mittels DC unter besonderer Berücksichtigung von Reagenzien mit geringer toxischer Belastung für Laborpersonal und Umwelt. Fresenius Zeitschr. Anal. Chem. 334, 1989, 349–353.

schung aus Hexan/Ether/Eisessig (2 : 1 : 1) entwickelt wird. Nach dem Trocknen der Platte wird diese mit dem Anfärbereagenz besprüht und für 20 min. auf einer Heizplatte (ca. 1000 °C) unter einem Abzug inkubiert.

d) Gaschromatographie-Massenspektrometrie (GC-MS): Von den erhaltenen Extrakten wurden aliquote Teile von 2µl direkt einer GC-MS-Analyse (General unknown) unterzogen.

Ergebnisse

In Anlehnung an WAIDELICH⁶ wurde als Nachweisverfahren für die Steroidhormone Cholesterin, Östradiol und Östron eine zweidimensionale Dünnschichtchromatographie durchgeführt. Mit dieser Methode wurden in beiden untersuchten Erdproben positive Befunde für Cholesterin erhalten, sowohl in den direkten Extrakten als auch nach saurer Hydrolyse im basischen Extrakt. Die sauren Extrakte enthielten jeweils einen zu hohen Matrixanteil, so daß die Chromatographie zu keinen eindeutigen Ergebnisse führte. Es ist zu vermuten, daß ein Teil des Cholesterins auch sauer extrahiert wird.

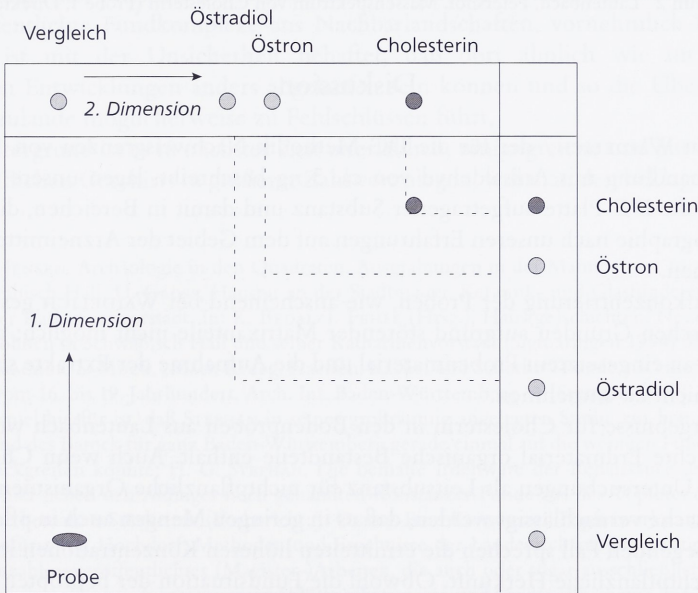


Diagramm 1 Lautenbach, Petershof. Schematische Darstellung einer Dünnschichtplatte nach zweidimensionaler Entwicklung mit positivem Nachweis für Cholesterin und negativen Befunden für Östron und Östradiol.

Auf der Dünnschichtplatte ergaben sich für Cholesterin violette Anfärbungen. Anhand der mitgeführten Vergleiche wurde eine semiquantitative Bestimmung vorgenommen (Tab. 1). Für Östron und Östradiol erbrachte der Vergleich gelblich-orange Anfärbungen, für die Erdproben ergaben sich negative Befunde (Diagr. 1). Es wurden auch keine weiteren Anfärbungen verzeichnet, die einen Hinweis auf sonstige Substanzen liefern könnten. Die positiven dünn-schichtchromatographischen Ergebnisse für Cholesterin konnten für beide Erdproben in den entsprechenden Extrakten gaschromatographisch-massenspektrometrisch bestätigt werden (Diagr. 2). Auch mit dieser wesentlich empfindlicheren Nachweismethode ergaben sich keine Hinweise auf weitere Steroide.

6 WAIDELICH (Anm. 1).

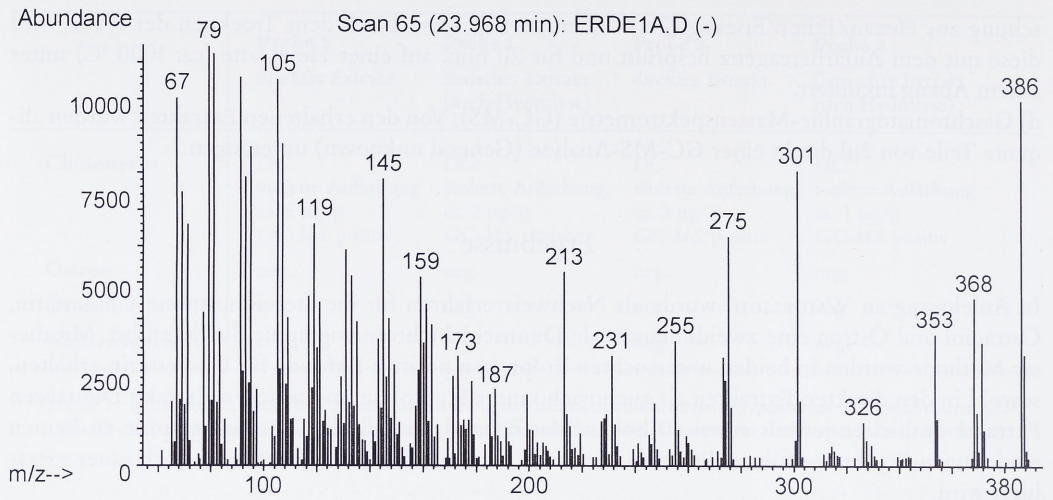


Diagramm 2 Lautenbach, Petershof. Massenspektrum von Cholesterin (Probe 1, Direktextrakt).

Diskussion

Im Gegensatz zu WAIDELICH,⁷ der für die DC-Methodik Nachweisgrenzen von 10 ng bzw. nach zusätzlicher Behandlung mit Anisaldehyd von ca. 5 ng beschreibt, lagen unsere Grenzen bei ca. 0,5–1 µg an auf die DC-Platte aufgetragener Substanz und damit in Bereichen, die für die Dünnschichtchromatographie nach unseren Erfahrungen auf dem Gebiet der Arzneimittelanalytik erwartet werden können.

Eine weitere Aufkonzentrierung der Proben, wie anscheinend bei WAIDELICH geschehen, war aus chromatographischen Gründen aufgrund störender Matrixanteile nicht möglich; genaue Angaben über die Menge an eingesetztem Probenmaterial und die Aufnahme der Extrakte sind aus der angeführten Arbeit nicht zu entnehmen.

Die positiven Ergebnisse für Cholesterin in den Bodenproben aus Lautenbach weisen darauf hin, daß das untersuchte Erdmaterial organische Bestandteile enthält. Auch wenn Cholesterin bei archäometrischen Untersuchungen als Leitsubstanz für nichtpflanzliche Organismen gilt, kann nicht generell die Tatsache vernachlässigt werden, daß es in geringen Mengen auch in pflanzlichen Fetten auftritt. Im vorliegenden Fall sprechen die ermittelten höheren Konzentrationen in den Erdproben eher für eine nichtpflanzliche Herkunft. Obwohl die Fundsituation der beprobten Gefäße für eine Deutung des Befundes als Deponierung von Nachgeburtsgefäßen spricht, konnten keine für die Nachgeburt charakteristischen Steroidhormone nachgewiesen werden.

Schlagwortverzeichnis

Archäometrie; Nachgeburt; Dünnschichtchromatographie; Steroidhormone.

Anschrift der Verfasser

Univ.-Prof. Dr. KURT W. ALT
 Universität Mainz, Anthropologisches Institut
 Saarstraße 21
 55122 Mainz

E-mail: altkw@mail.uni-mainz.de

Dr. FRANK MUSSHOFF
 Institut für Rechtsmedizin der Universität Bonn
 Stiftsplatz 12
 53111 Bonn

7 WAIDELICH (Anm. 1).