

MIINA HÄRMA GÜMNAASIUM

ELO JOANDI

TOITUMISE TUVASTAMINE JUUSTE ISOTOOPANALÜÜSIDE PÕHJAL: KAASAJA JA ARHEOLOOGILISE MATERJALI JUHTUMIUURING

JUHENDAJAD MARI TÕRV, ESTER ORAS JA HOLAR SEPP (TARTU ÜLIKOOL), ÕP HELEN SEMILARSKI

SISSEJUHATUS

Uurimistöö eesmärk on: a) anda ülevaade inimeste toitumisest juuste keratiini isotoopanalüüside kaudu, sealjuures tutvustada varasemaid sarnaseid uuringuid ja b) tuvastada proovi eeltötluse mõju tänapäevaste ja arheoloogiliste juuste isotoopanalüüside tulemustele. Analüüsimaterjaliks valiti juuksed a) tänapäeva inimestelt, b) Tartu Raadi kalmistul asuvalt 18. sajandi Telleri kabeli vanaproualt, c) Anna von Igelströmilt (29.9.1732–13.06.1760), kes oli maetud Tartu Jaani kirikus olevasse Münnichi kabelisse, ja d) Tartu Ülikooli Kunstimuseumi nooremalt muumiapoisilt (Oras *et al.*, 2020).

Isotoopanalüüse kasutatakse laialdaselt mitmes uurimisvaldkonnas, näiteks geokeemias (Pat Shanks III, 2014), antropoloogias, bioloogias (Chesson *et al.*, 2014), farmakoloogias (Schellekens *et al.*, 2011) ja kohtuekspertiisis (Forensics: Crime Scene Investigation, 2017). Inimeste või leitud inimsäilmete juuste uurimisel saab aimata, milline on olnud tema toitumine (O'Connell & Hedges, 1999; Macko *et al.*, 1999; Petzke *et al.*, 2005; Ellegård *et al.*, 2019). Uurides arheoloogilisi säilmeid, on muistse toitumise kohta kindlate arvuliste faktide teadmine vajalik, sest toitumine peegeldab suhet keskkonna, demograafia, majanduse ja toidu tootmistehnoloogia vahel (O'Connell & Hedges, 1999; Petzke *et al.*, 2010).

Käesolev uurimistöö otsib vastust küsimusele, kas ja kuidas peegeldab juukse keemiline koostis kaasaja ja minevikus elanud inimese toitumisharjumusi. Kitsamad uurimisküsimused on:

1. kuidas erinevad taimetoitlaste, veganite ja omnivoorse toitumisega inimeste juuste stabiilsete isotoopide väärtused teineteisest;
2. millised on arheoloogiliste leidude juuste analüüsi tulemused võrreldes tänapäeva materjaliga;

3. kui palju mõjutavad proovi tulemusi 2 kuud mullas hoidmine (matmise mimikeerimine) ja nii varem töötlemata kui juba töödeldud (värvitud, pleegitatud, jms) proovi erinevad eeltöötused;
4. milliseid muutuseid võib märgata ühe inimese juuksekarva pikkuse raames, mis võiksid viidata ajas muutunud toitumisharjumustele?

Saadud tulemusi kasutati 2021 sügisel Tartu Linnamuuseumis avatud näitusel „Sinna, kus olen pärija. Muutuv matmiskombestik keskajast ärkamisajani“, kus esitleti Tartu Jaani kiriku Münnichi kabeli ja Raadi kalmistu Telleri kabeli andmeid (Haak *et al.*, 2021). Näitusel toodi välja Telleri ja Münnichi kabelist leitud inimeste toitumisharjumused juuste ja luu kollageeni stabiilsete isotoopide võrdluses. Uurimistulemused on samuti toetavaks materjaliks Tartu Ülikooli Archemy labori juustepõhise toitumisanalüüsi meetodika väljatöötamisel. Töö on allikaks 21. sajandi inimeste toitumisharjumuste, juuksetöötlemismaterjalide, laboritehnoloogia ja kasutuses olevate meetodite kohta, mida saaks kasutada ka näiteks kohtumediitsiini praktikas (Bartelink *et al.*, 2016).

Autor tänab järgnevaid Tartu Ülikooli teadlasi märkimisväärse abi ning suurepärase juhendamise eest: Mari Tõrv (TÜ Archemy labor, arheoloogia osakond ja analüütilise keemia õppetool), Ester Oras (TÜ Archemy labor, arheoloogia osakond ja analüütilise keemia õppetool), Holar Sepp (TÜ Ökoloogia ja maateaduste instituut, geoloogia osakond); keemiahuvi tekitamise ja suunamise eest: Tõiv Haljasorg (TÜ Keemia instituut, analüütilise keemia õppetool).

SISUKORD

SISSEJUHATUS.....	1
MÕISTED JA LÜHENDID	5
1. KIRJANDUSE ÜLEVAADE	6
1.1. Aatomid ja isotoobid	6
1.2. Stabiilsete isotoopide kasutamine toitumise uurimisel	7
1.3. Stabiilsete isotoopide esitamine ja standardid	9
1.4. EA-IRMS ja kuidas see töötab.....	9
1.5. Toitumise mõju juukse keratiini süsiniku ja lämmastiku isotoopide väärtustele	12
1.5.1. Süsinik.....	13
1.5.2. Lämmastik	14
1.5.3. Muud isotoopide väärtuseid mõjutavad tegurid	14
1.5.4. Veganite, ovo-lakto vegetaarlaste ja omnivooride tüüpilised süsiniku ja lämmastiku isotoopide väärtused.....	15
1.6. Anna von Igelström	17
1.7. Telleri kabeli proua	17
1.8. Tartu Ülikooli muumiapoiss.....	18
2. METOODIKA	19
2.1. Uurimistöö protsess.....	19
2.1.1. Valimi koostamine, proovistamine ja eeltöö.....	19
2.1.2. Küsimustik	19
2.1.3. Eksperiment juuste matmisega	21
2.1.4. Töö Archemy laboris TÜ analüütilise keemia õppetoolis	22
2.1.5. Juuste kaalumise ja pakkimine isotoopväärtuste mõõtmiseks EA-IRMS-iga	23
2.1.6. EA-IRMS töökäik.....	25
2.1.7. Tulemuste analüüs ja korrastamine.....	26
2.1.8. Andmete hankimisel kaasnenud probleemid	26
3. TULEMUSED.....	27

3.1. Toitumisgruppide erinevused.....	28
3.2. Arheoloogilised leiud võrreldes tänapäeva inimestega	29
3.3. Töötluste mõju tulemustele.....	30
3.4. Ajaline muutus ühe inimese juuksekarvas	33
4. ARUTELU.....	34
4.1. Toitumisgruppide erinevused.....	34
4.2. Arheoloogilised leiud võrreldes tänapäeva inimestega	35
4.3. Töötluste mõju tulemustele.....	36
4.4. Ajaline muutus ühe inimese juuksekarvas	37
KOKKUVÕTE	39
SUMMARY	40
KASUTATUD ALLIKAD	43
LISAD	50
Lisa 1. Maetud proovi ettevalmistus	50
Lisa 2. Maetud proovi keskkond.	51
Lisa 3. M16 proovi Isodatis kuvatud tulemused.	52
Lisa 4. Töös analüüsitud proovid.	53

MÕISTED JA LÜHENDID

BMI – kehamassiindeks (ingl *body mass index*)

EA-IRMS - elementanalüüsi – isotoopide massisuhte spektromeetria (ingl *elemental analysis isotope ratio mass spectrometry*)

GC-C-IRMS – gaaskromatograafia lagunemise isotoopide massisuhte spektromeetria (ingl *gas chromatography combustion isotope ratio mass spectrometry*)

GC-MS – gaaskromatograafia massspektromeeter (ingl *gas chromatography mass spectrometry*)

IRMS – isotoopide massisuhte spektromeetria (ingl *isotope ratio mass spectrometry*)

SIA – stabiilsete isotoopide analüüs (ingl *stable isotope analysis*)

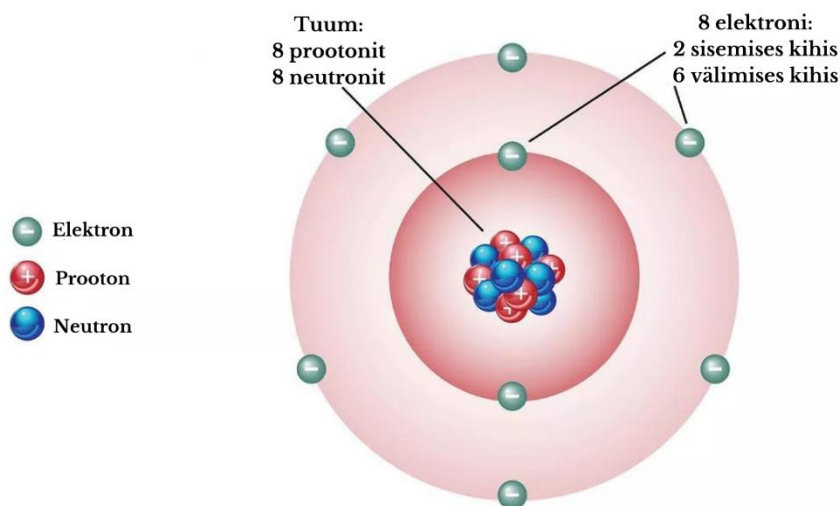
WHO – Maailma Tervishoiuorganisatsioon (ingl *World Health Organization*)

1. KIRJANDUSE ÜLEVAADE

Kirjanduse ülevaates antakse esmalt teoreetiline raamistik aatomitest ja isotoopidest, SIA (stabiilsete isotoopide analüüs) kasutamisest ajalooliselt Eestis ning välismaal. Seejärel vaadatakse juuste SIA meetodeid, seost toitumise ja isotoopide väärtuste vahel. Viimasena antakse ülevaade töös analüüsitavatest ajaloolistest isikutest.

1.1. Aatomid ja isotoobid

Aatomid on väikseimad aineosakesed, mis koosnevad tuumast ja selle ümber ringlevast elektronpilvest. Elektronpilves olevate elektronide (negatiivse laenguga osakeste) mass on niivõrd väike, et see ei mõjuta oluliselt aatomi massi, aga tuumas asetsevad prootonid (positiivse laenguga osakesed) ja neutronid (laenguta osakesed) seevastu mõjutavad. Neutronid ja prootonid on ligikaudu sama massiga, seega kui me teame, et aatomi tuumas on näiteks 8 prootonit ja selle aatommass on 16 aatommassi ühikut (a.m.ü), võime järeldada, et tegu on hapnikuga (vt joonis 1) ning neutronite koguarvu saab leida arvutamise teel (Sepp, 2020).






Joonis 1. Hapniku aatomi planetaarne mudel (OSweetNature, i.a.).

Isotoobid on ühe elemendi erineva massiarvuga aatomid. Kuna prootonite arv tuumas määrab ära elemendi, saab ühe elemendi piires erineda vaid neutronite arv (vt joonis 2) (Atkins & Jones, 2008). Enamasti on isotoopidel sarnased keemilised ja füüsikalised omadused, mis on elemendi aatomil, ent mitte alati (Atkins & Jones, 2008). Raskemad isotoobid reageerivad üldjuhul aeglasemalt kui kergemad, mis võib viia isotoopilise eraldatuse või fraktsioneerumiseni (What Are Stable Isotopes?, i.a.). Isotoope kirjutatakse, lisades elemendi nimetusele vastava massiarvu,

näiteks süsinik-12, süsinik-13, lämmastik-15. Isotoobi sümbol on elemendi sümbol, millele on vasakule lisatud ülaindeksina massiarv, näiteks ^{12}C ja ^{13}C (Atkins & Jones, 2008).

Vähem levinud isotoobid moodustavad ligikaudu 1% kogu aine aatomitest, ehk umbes 1 aatom 100-st on erineva neutronite arvuga (What Are Stable Isotopes?, i.a.). Iga perioodilisuse tabelis oleva elemendi vähem levinud isotoopide esinemise sageduse protsendid on välja arvatud (Sharp, 2017).

	Carbon-12 Stable	Carbon-13 Stable	Carbon-14 Radioactive
			
Proton	6	6	6
Neutron	6	7	8
Abundance	98.93%	1.07%	trace

Joonis 2. Süsiniku ^{12}C , ^{13}C (stabiilsed) ja ^{14}C (radioaktiivne) isotoobid prootonite, neutronite arvu ja isotoobi esinemissagedus protsendiga (Price, i.a.).

Stabiilsed isotoobid on aatomid, mis ajas iseeneslikult ei lagune, ehk pole radioaktiivsed. Nende püsivuse tõttu saab neid kasutada paljudes eri valdkondades, näiteks keskkonnateadustes, toitumise hindamise uuringutes ja kohtuekspertiisis. Mõõtes isotoopide koguseid ja proportsioone uuritavates ainetes, näiteks veeproovides, saab muuhulgas teada proovi ajaloo, päritolu ja allikate kohta. Enim kasutatavad stabiilsed isotoobid on ^{15}N , mida kasutatakse põllumajanduses, ^{18}O , mis on kasutuses kliimauuringutes ja ^2H , deuterium (Stable Isotopes, i.a.) ning ^{13}C , mis leiab kasutust toitumise uurimises (Klein, 2013).

1.2. Stabiilsete isotoopide kasutamine toitumise uurimisel

Avastuse, et stabiilsete elementide aatomitel võivad olla erineva massiga aatomid, tegi Joseph John Thomson aastal 1912 (Thomson, 1913). 1921. aastal leidis Francis William Aston oma massspektromeetri abil, et Cl aatommass ei ole alati ühtselt 35,5, vaid võib olla 35 või 37. Neli aastat hiljem, 1925, pakkusid Percy Lucock Robinson ja Henry Vincent Aird Briscoe välja, et isotoopide suhte kõikumine võiks olla seotud looduslike protsessidega ning nende jaotumine ei

ole looduses täiesti juhuslik (varem eeldati, et kõikide ainete isotoopide kompositsioon on Maal homogeeniselt jaotatud). 1930ndate keskel suudeti vee tiheduse täpse mõõtmise abil tõestada variatsioone hapniku ja vesiniku isotoopide suhetes. 1946. aastal tekkis idee, et O fraktsioneerumisest saab tuletada materjali tekke temperatuuri. Esimene GC-MS ehitati 1950. aastal ja kui seni oli stabiilsete isotoopide analüüsi abil uuritud vett või geoloogilisi elemente, siis 1952. viis Frans Erik Wickman läbi uuringu süsiniku isotoopide variatsioonist taimedes (Sharp, 2017).

Stabiilsete isotoopide kasutamist arheoloogias uurisid esimesena Johann Carl Vogel ja Nikolaas Johannes van der Merwe 1977. aastal. Van der Merwe oli tähele pannud, et mõnede luude isotoopiline koostis oli väga erinev, täpsemalt süsiniku isotoobi. Teades, et C3- ja C4-tüüpi taimede süsiniku $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ isotoopide suhted on erinevad, otsustas ta uurida seost luustike isotoopide koostise ja maisi laialdase kasutuselevõtu vahel (Vogel & van der Merwe, 1977). Peale van der Merwe ja Vogeli uurimistööd hakati senisest enam uurima ^{13}C ja ^{15}N stabiilsete isotoopide väärtuseid nii loomade, taimede kui ka inimeste kudedes (DeNiro & Epstein, 1978; DeNiro & Epstein, 1981; Chisholm *et al.*, 1982; Schoeninger *et al.*, 1983; DeNiro, 1985). Inimese kudedest on levinuimaks uurimisobjektiks saanud luu, täpsemalt luu kollageen, sest see on tihti ainus säilinud orgaaniline materjal, mis annab infot erinevate elu kümnendite (lapse hammaste dentiini kollageen kuni 18 aastat, muud luud 10 kuni 20 aastat enne surma (Eriksson & Lidén, 2013)) kohta. Uuritud on ka küüsi ja juukseid, kuhu on talletunud info lühema perioodi kohta (O'Connell *et al.*, 2001).

O'Connell ja Hedges olid ühed esimesed, kes võtsid ette ^{13}C ja ^{15}N isotoopide erinevuste analüüsimise tänapäeva inimeste juukse keratiinis võrdeliselt inimese toitumisega (O'Connell & Hedges, 1999). Samal aastal uurisid Macko *et al.* muistseid jäänuseid Egiptuse koptidest, Tšiili tšintšorrodest ja Egiptuse Keskmisest riigist (Macko *et al.*, 1999). Nad tõid oma töös välja, et luu kollageeni isotoopide väärtuseid võivad oluliselt mõjutada diagenees ja proovi saastatus, kuid juukseid mitte (O'Connell & Hedges, 1999; Macko *et al.*, 1999). Lisaks süsinikule ja lämmastikule on juustest analüüsitud väävli (^{34}S), vesiniku (^2H) ja hapniku (^{18}O) isotoopide väärtusi, mida saab seostada merelise ja mandrilise toitumise eristamisega ning inimese geograafilise asupaigaga (Bol & Pflieger, 2002; Ehleringer *et al.*, 2008).

Eestis on stabiilsete isotoopide abil toitumist uuritud eelkõige loomade ja inimeste luu kollageeni põhjal. Varasematest uuringutest võiks välja tuua Lõugas *et al.* 1996 töö, milles kasutatakse ^{13}C isotoopanalüüsi loomaluudel, hilisematest näiteks Aguraiuja-Lätti & Lõugas 2019 (süsiniku, lämmastiku ja väävli isotoobid luu kollageenis) ja Tõrv 2016 (süsiniku ja lämmastiku isotoobid luu

kollageenis ja hamba dentiinis) (Lõugas *et al.*, 1996; Tõrv, 2016; Agurauja-Lätti & Lõugas, 2019). Juuste stabiilsete isotoopide analüüsi ei ole Eestis varem läbi viidud, seega on antud uurimistöö selles valdkonnas esimene. Vastav võimekus selliseid analüüse teha saavutati Tartu Ülikoolis alles 2013. ning Tallinna Tehnikaülikoolis 2019. aastal.

1.3. Stabiilsete isotoopide esitamine ja standardid

Stabiilsete isotoopide analüüsil saadud tulemusi esitatakse δ (*delta notation* e delta mäрге) väärtusena, mille võtsid kasutusele McKinney *et al.* 1950. aastal kui mugava viisi, kuidas väljendada üsna väikeseid suhtelisi erinevusi (vt joonis 4) (McKinney *et al.*, 1950). See arvutatakse järgneva valemi abil.

$$\delta = \left(\frac{R_x - R_{std}}{R_{std}} \right) \times 1000 \qquad \delta = \left(\frac{R_x}{R_{std}} - 1 \right) \times 1000$$

lihtsustatult

Joonis 4. Valem δ väärtuse arvutamiseks, kus R tähistab raskema isotoobi suhet kergemasse, x märgib proovi ja std on lühend „standardile“.

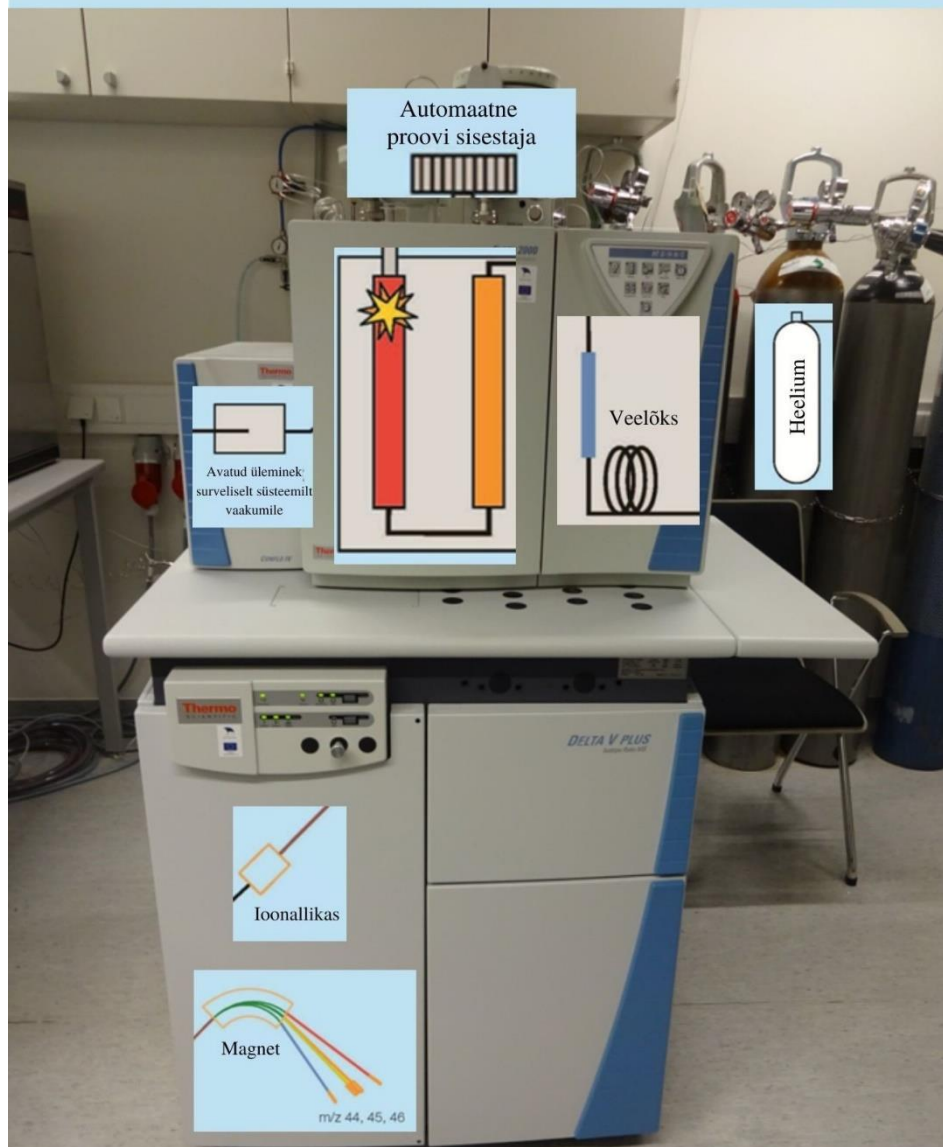
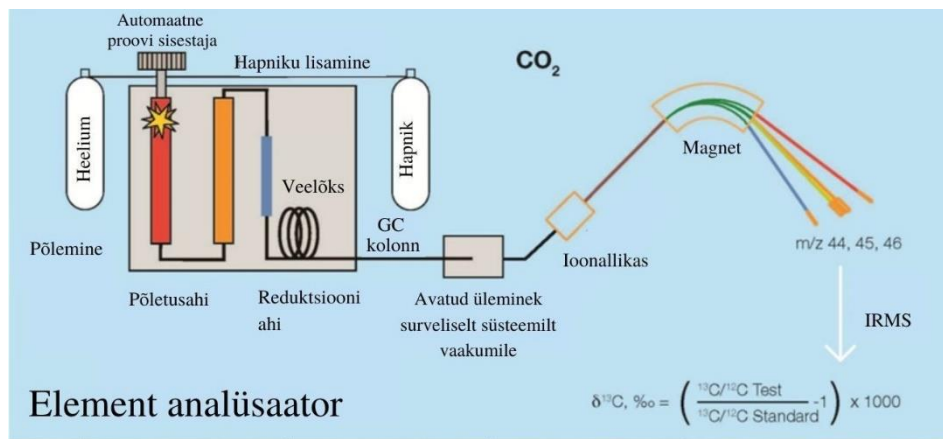
Süsiniku ja lämmastiku R on vastavalt $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ja $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$. Parema esitatavuse nimel antakse δ -väärtus promillides. Positiivne δ -väärtus tähendab, et proovis on raskemat isotoopi rohkem kui standardis, ja negatiivne väärtus, et proovis on raskemat isotoopi vähem (Sharp, 2017). Igal elemendil on oma kindel standard, mille isotoopide väärtuste suhted on hoolikalt kalibreeritud. Näiteks lämmastiku standard on Maa atmosfääris oleva lämmastiku isotoopsuhe ning süsiniku standardina kasutatakse Kriidi ladestu fossiilse materjali Pee Dee belemniiidi väärtust (V-PDB ehk *Vienna Pee Dee Belemnite*). Juhtub ka, et standardid saavad otsa, mis juhul kalibreeritakse nende suhtes erinevad rahvusvahelised standardite materjalid, mida saab kasutada reaalses laboritöös (Sharp, 2017). Mõned IAEA (International Atomic Energy Agency) sertifitseeritud standard materjalid süsinikule on IAEA CH 6 (sahharoos), IAEA CH 3 (tselluloos) või USGS24 (grafiit), lämmastiku standardid on USGS25, IAEA N-1, IAEA N-2 (ammooniumsulfaat) või NSVEC (puhas lämmastik gaasina) (Reference Materials Characterized for Stable Isotope Ratios, i.a.).

1.4. EA-IRMS ja kuidas see töötab

IRMS (ingl *isotope ratio mass spectrometry*) on isotoopanalüüsi meetod, mille abil saab ülimalt täpselt mõõta isotoopide masside suhteid analüüsitavas materjalis (Mills & White, 2003). IRMS-il

on viis peamist sektsiooni/osa: 1) proovide sisestamise süsteem, 2)ioonallikas, 3) magnet, 4) Faraday-kollektoritest koosnev detektor ja 5) arvuti kontrollitud andmehõivesüsteem (vt joonis 5) (Muccio & Jackson, 2009).

Siinses uurimistöös on kasutatud EA-IRMS-i (ingl *elemental analyzer isotope ratio mass spectrometry*). EA-IRMS on süsteem, mille abil saab mõõta isotoopide omavahelisi suhteid (IRMS) ja ainete sisaldust proovis (EA). Proovi mõõtmiseks kaalutakse kõigepealt väike kogus proovi kapslisse, mis sisestatakse automaatsesse proovi sisestajasse (ingl *autosampler*). Sealt liigub proov edasi põletusahju (ingl *combustion furnace*), kus see kõrgetel temperatuuridel ja hapniku voolus põleb erinevateks gaasideks. Süsiniku ja lämmastiku isotoopide väärtuste analüüsis viib kandev gaas (ingl *carrier gas*, heelium) lagunenu proovi reduktsiooni kambrisse (ingl *reduction furnace/chamber*), kus üleliigne hapnik eemaldatakse ja lämmastikoksiididest saab N₂. Järgmisena viiakse analüüsiv proov läbi keemilise n-ö „veelõksu“, mis eemaldab põlemisel tekkinud H₂O, ning edasi gaasikromatograafi, kus toimub gaaside eraldamine teineteisest. Isotoopide väärtuseid kalibreeritakse standardite väärtustega, mis peaks olema sarnases suurusjärgus proovidega (Muccio & Jackson, 2009; Sharp, 2017).

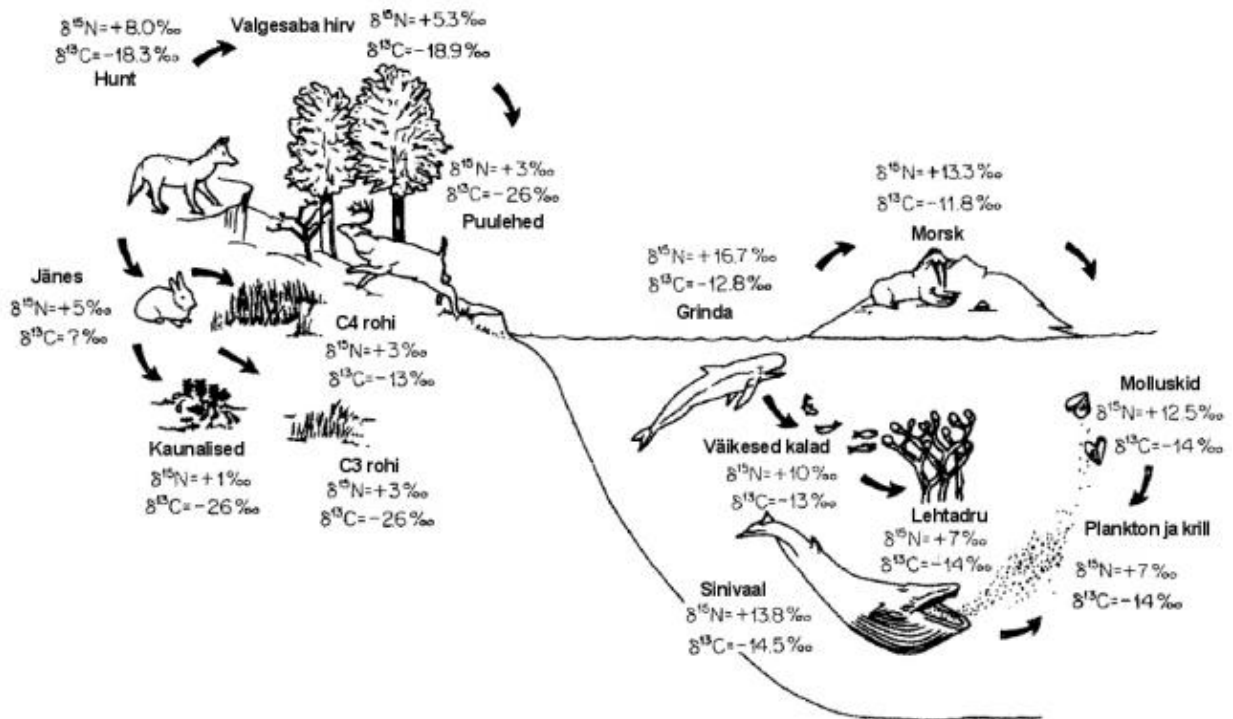


Joonis 5. IRMS süsteem kujutatud laborisüsteemil.

1.5. Toitumise mõju juukse keratiini süsiniku ja lämmastiku isotoopide väärtustele

Me tarbime iga päev vastavalt vajadustele, otsustele või võimalustele eri kogustes loomset või taimset toitu. Arvukal hulgal uurimusi on kasutanud stabiilsete isotoopide analüüsi ning tõestanud SIA usaldusväärsust organismi toitumise ja troofilise taseme määramisel (Ostrom & Fry, 1993; Macko *et al.*, 1999). Rahvasuus levinud ütlus „sa oled see, mida sööd“ vastab antud valdkonnas tõele, sest biosünteesi ning lämmastiku ja süsiniku organismi kudedesse talletumise tõttu on tarbija ja toidu isotoopide väärtused omavahel seotud (Tieszen, 1991; Koch *et al.*, 1994).

Luu kollageeni talletub inimeste puhul ligikaudu 10 aasta keskmine toitumise info (Stenhouse & Baxter, 1979), samas kasvavad juuksed umbes 1 cm kuus (Saitoh *et al.*, 1970) ehk 1 cm-st juustest leiab informatsiooni 1 kuu toitumise kohta, kusjuures toitumise muutumine väljendub juukse isotoopide väärtustes 6–12 päeva jooksul (Nakamura *et al.*, 1982). On teada, et juukse keratiini süsiniku ja lämmastiku isotoopide väärtused on positiivses seoses tarbitud toiduga (Schoeller *et al.*, 1986; Yoshinaga, *et al.*, 1996), st need kasvavad vastavalt umbes 1–2‰ ja 2–3‰ troofilise taseme kaupa (vt joonis 6) (DeNiro & Epstein, 1978; DeNiro & Epstein, 1981; Tieszen & Fagre, 1993). See tähendab, et näiteks karnivooridel on $\delta^{15}\text{N}$ väärtus kehas kõrgem kui herbivooridel ning herbivooridel sarnaselt kõrgem kui nende tarbitavatel taimedel (Schoeninger & DeNiro, 1984). Kusjuures rinnapiimast toituvate imikute $\delta^{15}\text{N}$ on kõrgem ema omast, sest „toitutakse“ justkui emast, mis asetab nad toiduahela tippu (O'Connell & Hedges, 1999).



Joonis 6. Süsiniku ja lämmastiku isotoopide sisalduse muutumine organismis troofilise taseme kaupa (Aguraiuja-Lätti, 2011).

1.5.1. Süsinik

Süsinik siseneb bioloogilistesse süsteemidesse peamiselt läbi taimede fotosünteesi eri tüüpide (C3 ja C4) (Wang *et al.*, 2012) maismaal ja kemosünteesi süvamere-organismide ja bakterite puhul. Maismaa taimed omastavad süsinikku fotosünteesi abil CO_2 -st õhus, kus selle $\delta^{13}\text{C}$ väärtus on umbes -7‰ . C3-tüüpi taimed (nisu, oder, soja, kartul, enamik puu- ja juurviljad (Schoeller, 1999) on levinud kõrgematel laiuskraadidel, mägedes ja metsades ning nende $\delta^{13}\text{C}$ väärtused on ligikaudu 34‰ ... -21‰ ehk keskmiselt -27‰ . C4-tüüpi taimi (näiteks maisi, suhkruroogu ja hirssi (Petzke, *et al.*, 2005)) võib leida kuumema ja kuivema kliimaga aladel ning nende ^{13}C väärtused on kõrgemad, jäädes vahemikku -16‰ ... -8‰ ehk keskmiselt -13‰ (Ambrose & DeNiro, 1986; Tieszen, 1991; Schoeninger & Moore, 1992; Koch *et al.*, 1994).

Loomad omastavad süsinikku läbi toidu, seega loomse proteiini kui toidu süsiniku isotoopide väärtused sõltuvad suuresti looma elupaigast ja toitumisest (DeNiro & Epstein, 1978). Merelise toitumisega kalade ja loomade keskmised $\delta^{13}\text{C}$ väärtused on -16‰ , samas mageveekogude kalade ja neist toituvate imetajate väärtused on kuni -26‰ . Meretaimede süsiniku isotoopide väärtuseid mõjutavad mitmed erinevad süsiniku allikad, lisaks toimub meres pidevalt süsiniku ionide ja ühendite vahetus ja fraktsioneerumine. Üldjuhul sarnanevad vetikate ja mereliste

taimede $\delta^{13}\text{C}$ väärtused C4-tüüpi taimedele, planktonite väärtused C3-taimedele (Sealy, 2001). Seega võib süsiniku isotoopide väärtustest välja lugeda, kas inimene on tarbinud C3- või C4-tüüpi, maismaa- või meretaimi (Macko *et al.*, 1999).

1.5.2. Lämmastik

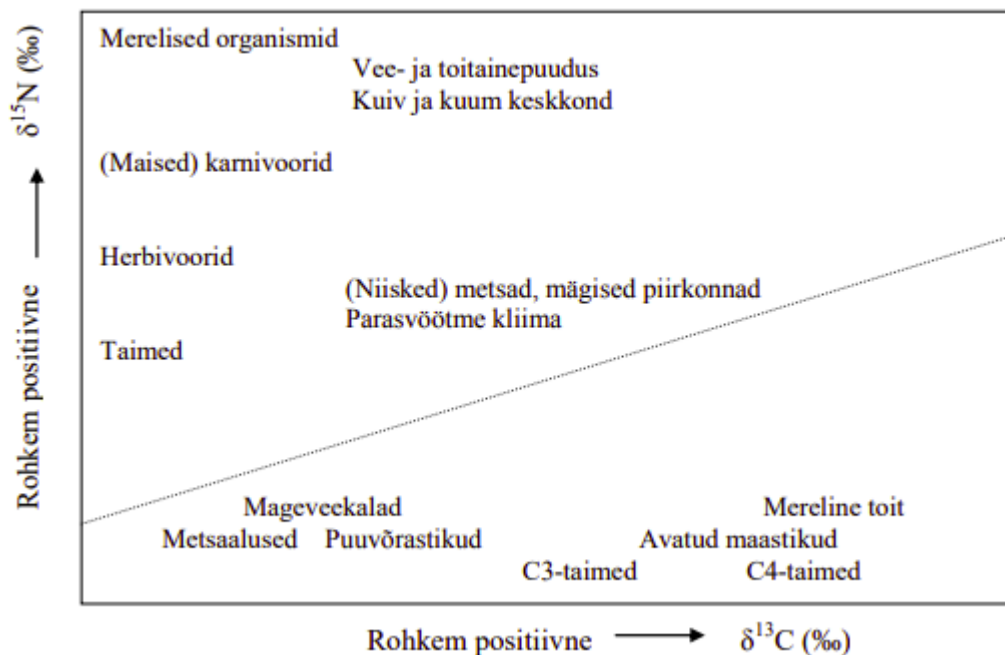
Lämmastik esineb Maal enamasti kas N_2 gaasina atmosfääris või lahustatuna maailmamerre, seega on taimede lämmastiku „allikad“ erinevad ja seetõttu erinevad ka nende lämmastiku isotoopide väärtused. Otse õhust lämmastikku omastavate taimede $\delta^{15}\text{N}$ väärtused jäävad vahemikku -2‰ ... $+2\text{‰}$, sarnanedes standardina kasutatavale atmosfääri N_2 0‰ väärtusele. Teistest alternatiivsetest allikatest lämmastikku omastavatel taimedel võivad $\delta^{15}\text{N}$ väärtused aga jääda suhteliselt laia vahemikku -8‰ ... $+10\text{‰}$ (Peterson & Fry, 1987; Schoeninger & Moore, 1992). Lämmastiku raskema, $\delta^{15}\text{N}$ isotoobi kogunemine organismi tuleneb asjaolust, et urea tekkel toimub isotoopide fraksioneerumine, mille käigus eelistatakse kergemat isotoopi (Sharp, 2017; Hülsemann *et al.*, 2017). Keha lämmastiku isotoopide väärtused sõltuvad sellest, kas ja kui palju inimene on tarbinud maismaa- või meretaimi (Macko & Engel, 1991), maismaa- või merelise päritoluga loomset produkti (Schoeninger & DeNiro, 1984), ja ka sellest, kas inimene on nälginud (Mekota *et al.*, 2006; Mekota *et al.*, 2009; Neuberger *et al.*, 2013). Meretaimede $\delta^{15}\text{N}$ väärtused on tüüpiliselt kõrgemad kui maismaataimede omad (väärtused vastavalt $+6$ ja 0‰) (Macko & Engel, 1991) ning see erinevus toiduahela alguses tõstab ka mereloomade $\delta^{15}\text{N}$ väärtused kõrgemateks maismaaloomade omadest (Miyake & Wada, 1967; Sweeney *et al.*, 1978; Schoeninger *et al.* 1983). On leitud ka, et merelist (kuid mitte mageveelist) produkti peamise toiduallikana tarvivate inimestel (näiteks eskimotel) on $\delta^{15}\text{N}$ väärtused oluliselt kõrgemad (ligikaudu 10‰) (Schoeninger *et al.*, 1983).

1.5.3. Muud isotoopide väärtuseid mõjutavad tegurid

Alati ei ole isotoopanalüüsi puhul tulemused üheselt selgitatavad. Lisaks toitumisele mõjutavad organismide isotoopide väärtuseid näiteks loomulik liigisisene variatsioon, taime kasvupinnase omadused, kõrgus merepinnast, keskmine õhutemperatuur, aastane sademete hulk ja lämmastiku eritamine kehast urea kaudu, mida mõjutab veepuudus (vt joonis 7). Soo ja vanuse mõju isotoopide väärtustele ei ole täheldatud (Agurauja-Lätti, 2011), samuti ei mõjuta juuste isotoopide väärtuseid šampoonid ega karvade hallinemine (Minagawa, 1992; O'Connell & Hedges, 1999).

Nälgimise puhul on märgatud, et $\delta^{15}\text{N}$ väärtused on keha BMI muutusega pöördvõrdeliselt seotud ehk madalam BMI (st nälgimine) põhjustab kõrgemaid lämmastiku väärtuseid. Süsiniku puhul on asi vastupidine (Mekota *et al.*, 2006). Arheoloogiliste säilmete uurimisel, kui on võimalus, et individid

võis olla toitainete vaeguses või näljas (Beaumont & Montgomery, 2016), või anoreksia patsientide seisukorra jälgimisel (Neuberger *et al.*, 2013) tuleb selle aspektiga arvestada. Lämmastiku väärtused võivad kõikuda ligikaudu -0.8 kuni 4.3‰ ja süsiniku väärtused -1.9 kuni 2.6‰ vahemikus tavalisest väärtusest (Doi *et al.*, 2017).



Joonis 7. $\delta^{13}\text{C}$ ja $\delta^{15}\text{N}$ väärtuseid mõjutavad tegurid (Agurauja-Lätti, 2011).

1.5.4. Veganite, ovo-lakto vegetaarlaste ja omnivooride tüüpilised süsiniku ja lämmastiku isotoopide väärtused

Omnivoorid on organismid, kes tarbivad toiduks nii taimset kui ka loomset toitu (National Geographic Society, 2020). Taimepõhised toitumised jagunevad WHO andmetel kategooriatesse peamiselt vastavalt sellele, kui palju ja millist loomset produkti nad lisaks tarbivad. Veganid hoiduvad toitumisel igasugusest loomsest toidust, sh lihast, piimatoodetest, kalast (mereandidest), munast ja tavaliselt ka meest. Lakto-vegetaarlased tarbivad piimatooted ning ovo-vegetaarlased muna (ovo-lakto vegetaarlased tarbivad mõlemaid), kuid hoiduvad kalast (mereandidest) ja lihast. On olemas ka pesko-vegetaarlased (peskatarlased), kes tarbivad kala (mereande), piimatooted ja mune, kuid mitte liha ning semi-vegetaarlased (fleksitaarlased), kes tarbivad liha, piimatooted, mune, kana või kala harva ja väikestes kogustes (World Health Organization, 2021). Pollo-vegetaarlased (itaalia ja hispaania keeles *pollo* = kana) tarbivad lisaks

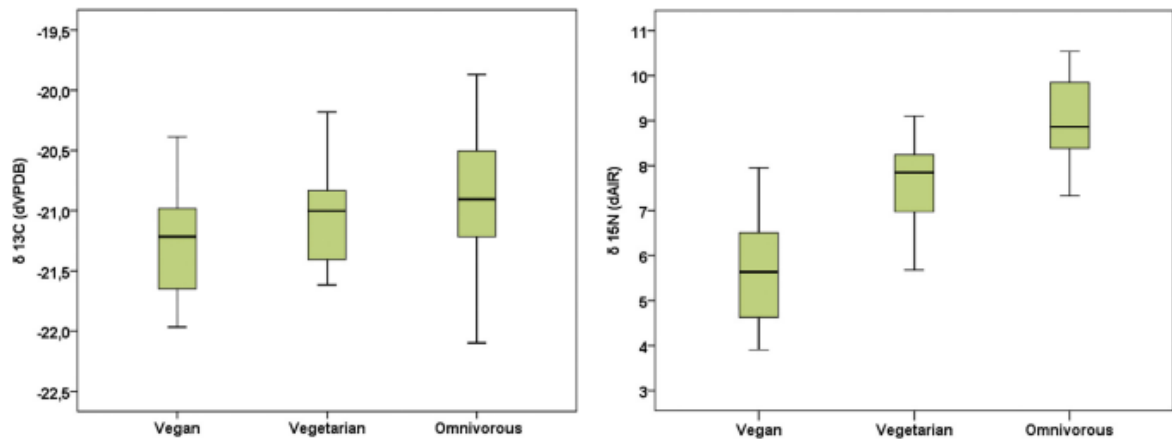
taimsele toidule ka kana, muna või piimatooteid (vt joonis 8) (Hogan & Wane, 2002; Laguna & Claudio, 2012).

	Taimed	Muna	Piimatooted	Mereannid	Kana	Muu liha
Pollo-vegetaarlased	Jah	Jah	Jah	Ei	Jah	Ei
Pesko-vegetaarlased	Jah	Jah	Jah	Jah	Ei	Ei
Ovo-lakto vegetaarlased	Jah	Jah	Jah	Ei	Ei	Ei
Ovo-vegetaarlased	Jah	Jah	Ei	Ei	Ei	Ei
Lakto-vegetaarlased	Jah	Ei	Jah	Ei	Ei	Ei
Veganid	Jah	Ei	Ei	Ei	Ei	Ei

Joonis 8. Erinevad taimepõhised toitumised ja loomsete produktide tarbimine.

Organismi tarbitud loomse valgu, st liha, kala, piima jms, kogus on seotud positiivsemate lämmastiku isotoobi väärtustega organismis (O'Connell & Hedges, 1999; Bol & Pflieger, 2002; Petzke *et al.*, 2005), seevastu loomsest produktist hoidumine tagab madalamad $\delta^{15}\text{N}$ väärtused (O'Connell & Hedges, 1999). Ellegård *et al.* 2019 leidsid, et veganeid, omnivoore ja vegetaarlaseid on võimalik teineteisest eristada just $\delta^{15}\text{N}$ väärtuse poolest, seevastu $\delta^{13}\text{C}$ väärtused erinevad oluliselt vaid veganite ja omnivooride vahel, vegetaarlasi nende põhjal eristada ei saa (vt joonis 9). Omnivooride $\delta^{15}\text{N}$ on keskmiselt $8,9 \pm 0,9\text{‰}$ ja $\delta^{13}\text{C}$ $-20,9 \pm 0,5\text{‰}$. Vegetaarlaste $\delta^{15}\text{N}$ jääb üldjuhul vahemikku $7,6 \pm 1,0\text{‰}$ (Ellegård, et al., 2019), aga võib erandjuhtudel küündida ka $9,4\text{‰}$ -i (O'Connell & Hedges, 1999; Petzke *et al.*, 2005), $\delta^{13}\text{C}$ jääb vahemikku $-21,0 \pm 0,4\text{‰}$. Veganitel varieeruvad $\delta^{15}\text{N}$ väärtused $5,6 \pm 1,2\text{‰}$ ringis, $\delta^{13}\text{C}$ jääb $-21,3 \pm 0,4\text{‰}$ vahemikku (Ellegård *et al.*, 2019).

Teised uuringud on leidnud, et veganite, ovo-lakto vegetaarlaste ja omnivooride $\delta^{15}\text{N}$ väärtused jäävad vastavalt vahemikku $6,9 \pm 0,5\text{‰}$, $8,7 \pm 0,5\text{‰}$ ja $8,8 \pm 0,6\text{‰}$ ning $\delta^{13}\text{C}$ väärtused vastavalt vahemikku $-20,9 \pm 0,8\text{‰}$, $-21,0 \pm 0,3\text{‰}$ ja $-20,2 \pm 0,7\text{‰}$ (O'Connell & Hedges, 1999). Kolm aastat hiljem tehtud uuring leidis samade toitumisgruppide $\delta^{15}\text{N}$ ja $\delta^{13}\text{C}$ väärtused $6,7 \pm 0,7\text{‰}$, $8,5 \pm 0,6\text{‰}$ ja $9,8 \pm 0,6\text{‰}$ lämmastiku ning $21,7 \pm 0,1\text{‰}$, $21,2 \pm 0,3\text{‰}$ ja $20,8 \pm 0,4\text{‰}$ süsiniku puhul (Bol & Pflieger, 2002).



Joonis 9. Veganite ja omnivooride $\delta^{13}\text{C}$ väärtused erinevad, kuid vegetaarlaste tulemused langevad teiste gruppidega kokku (Ellegård, *et al.*, 2019).

1.6. Anna von Igelström

Paruness Anna Elisabeth von Münnichi ja tema abikaasa Christian Wilhelm von Münnichi (Anna Elisabeth von Münnichi sarkofaag, 2008) noorima täisealiseks saanud tütre Anna von Igelströmi (snd von Münnichi, 29.9.1732–13.06.1760) kohta ei ole palju teada. Ta sündis Peterburis, kust tuli hiljem Eestisse ning 1744. aastast elas ja kasvas Luunja mõisas. Oma tulevase abikaasa Harald Gustav von Igelströmiga kohtuski ta sealsetes tantsutundides ja 1757. aastal nad abiellusid. Anna ja tema laste surma põhjuste kohta andmed puuduvad. Peale Anna surma 1760. aastal abiellus Gustav tema vanema õe Sophia Friedricaga; Münnichite perekonnakabelisse on maetud ka nende 24. mail 1763 surnud 14-päevane poeg Christoph Wilhelm Gustav Harald (Haak *et al.*, 2021).

1.7. Telleri kabeli proua

Telleri kabel on Tartus Raadi kalmistul asetsev Tartu raehärra Jacob Friedrich Telleri (07.01.1729–23.11.1794) matusekabel. Telleri naine Maria Elisabeth suri 24.02.1799. Kuna neil lapsi ei olnud ja kabeli ajaloost peale raehärra surma ei ole palju teada, on eeldatud, et see sai millalgi uue omaniku. 19. sajandil kuulus kabel mingil perioodil Henningi perekonnale, peale mida andmete põhjal kabelisse rohkem inimesi ei maetud. 2016.–2017. aastal korrastati kabelit, mille käigus viidi läbi arheoloogilised uuringud ja leiti vähemalt 55 luustikku, kirstudetaile ja rõivastuse osi. Ehkki baltisaksa raehärrade järeltulijate väljavaated ellu jäämiseks olid oluliselt paremad kui eesti peredesse sündinud lastel, moodustasid kabelist leitud säilmetest loodete ja kuni aastaste laste säilmed pea kolmandiku. Maetud olid kõik kõrgemast seisust linlased, mistõttu on huvitav

asjaolu, et luustike uurimisel leiti märke podagrast, diabeedist ja südame-veresoonkonna haigustest, samuti olid paljudel hambad välja langenud. Kabelisse maetute hulgast ei ole võimalik Tellereid eristada, kuid riietuse järgi pärineb enamik maetuid pigem 19. sajandist. Seetõttu ei saa olla kindel Telleri kabeli prouaks „ristitud“ vanema naise seoses Tellerite perekonnaga. Telleri kabeli proua väärrib kabelist leitud säilmete seas eraldi märkimist, sest tema surnukeha on kabeli püsivalt jaheda ja kuiva kliima abil looduslikult mumifitseerunud. Naise luustiku uurimisest on teada, et ta elas 18.–19. sajandil ja kannatas osteoartroosi ja Forestier'i tõve käes, mis tuleneb ülekaalust ja II tüüpi diabeedist ning tõi endaga kaasa hingamis- ja neelamisraskused (Tvauri & Malve, 2017).

1.8. Tartu Ülikooli muumiapoiss

Otto Friedrich von Richter (1791–1816) oli baltisaksa päritolu Eesti orientalist ja maadeuurija, tänu kellele jõudsid 1819. aastal Tartu Ülikoolini kaks Egiptusest pärit inimmuumiat koos kahe looma muumiaga. Otto reisis algasid 1814. aastal kui ta reisis Odessast Konstantinoopoli, kus ta kohtus Sven Fredrik Lidmaniga, kellest sai tema reisikaaslane. Mõni aeg hiljem saatis Otto oma kogutud manuskriptid ja antiikesemed Rootsi, kust need hiljem toodi tema kodumõisasse Väimelasse. 1816. aastal suri Otto İzmiris, pärast mida otsustas tema isa Otto Magnus von Richter (1755–1826) annetada poja mälestuseks tema Egiptuse esemete kogu Tartu Ülikoolile. Muumiapoisid veetsid suurema osa 20. sajandist ülikooli anatoomikumis, kust nad 1980. aastal Tartu Ülikooli Kunstimuuseumi tagasi toodi. Muumiatelt oli destruktiivse proovistamise käigus võetud ligi 20 proovi, mille uurimise tulemused pole teada.

Noorem muumia, kelle juukseid siin uurimistöös kasutatakse, oli 2- kuni 4-aastane poiss, kes elas umbes 350.–50. eKr. Analüüside põhjal leiti tema kehalt muuhulgas palsameerimisel kasutatud taime/loomaõli, vaigulist ja valgulist materjali ning juustest sahhariide ning anorgaanilisi ühendeid (Oras *et al.*, 2020). Muumiapoisid toitumist ei ole varem uuritud, seega ei saa olla kindel, millisesse ühiskonnakihti ta kuulus või milline võis välja näha tema toidulaud.

2. METOODIKA

Töö autor uuris tänapäeva inimeste ja arheoloogiliste säilmete juuste isotoopilisi väärtuseid, kasutades selleks Tartu Ülikooli Chemicumis olevaid masinaid (EA-IRMS - Flash HT + Delta V plus, mõlemad Thermo Fisher Scientific tootjalt, mikrokaal Sartorius Cubis). Tänapäeva inimeste juuste proovidele toetava lisainfo saamiseks uuriti internetis läbi viidud küsitluse kaudu ka proove andnud inimeste toitumisharjumusi ning seda, kas nad on oma juukseid värvinud.

2.1. Uurimistöo protsess

2.1.1. Valimi koostamine, proovistamine ja eeltöö

Uurimistöoga alustati 2021. aasta veebruaris, kui töö autor kontakteerus esimest korda juhendajatega ja hakkas valimit koostama. Autor lähtus valimi koostamisel üksteisest võimalikult erinevate toitumisharjumustega (veganid, omnivoorid, ovo-lakto vegetaarlased ja suuremal hulgal liha tarbivad) ja juuste töötlemisega (juuksevärvid, henna) inimestest. Valimisse kuulusid inimesed autori tutvusringkonnast ja koolist. Proovi (10–30 juuksekarva/väiksema salgu juukseid) pakkisid uurimuses osalejad fooliumisse ja märkisid, kummal pool on juuksejuured. Viimane oli vajalik, et näha juukse kasvu ajalist kulgu. Lisaks koostas autor loetud kirjanduse põhjal proove andnud inimestele küsitluse, kus nad said muuhulgas märkida, kas soovivad jääda anonüümseks või mitte. Autor sai analüüsimiseks juhendajatelt ka kolm arheoloogilist proovi: Tartu Ülikooli Kunstmuuseumi noorema poisi muumia, Telleri kabelis asunud 18. sajandi vanaproua ja Tartu Jaani kirikus olevas Münnichi kabelis asunud Anna von Igelströmi juuksed.

Kevad- ja suvekuudel koostas autor ülevaadet loetud kirjandusest ja organiseeris proovide andmeid kajastava tabeli. Otsustati, et proovide eeltöötlemise mõju uurimiseks (kas ja kui palju mõjutab šampooni jääkide eemaldamine või kas juuksevärvid reageerivad töötlusvahenditega) oleks vaja teha osadest juustest (vt lisa 4) kolm eri proovi: a) ilma eeltöötlemiseta proov, b) MilliQ ülipuhta veega töödeldud proov ja c) atsetooniga töödeldud proov. Toitumise ajalise muutuse uurimiseks juuksekarva raames otsustati lõigata karvad 5 cm juppideks, alustades lõikamist juukse juure poolt.

2.1.2. Küsimustik

Küsimustikule vastas 8 inimest (vt tabel 1). Neist 7 olid naised ning 1 mees. Noorim vastaja oli küsimustiku koostamise ja juuste proovide andmise ajal 16, vanim 47. Neli vastajat toitusid omnivoorselt, kaks olid veganid, üks oli hiljuti üle läinud vegetaarsele toitumisele ja üks ei söönud

punast liha, kuid tarbis piima, muna, kala ja kana (on siiski kategooria vegetaarlane all). Neli vastajat pidasid oma toitumisest väga rangelt kinni, kolm ei pidanud ning ühel olid harvad kõrvalekalded. Toitumisharjumuste kestus oli erinev: kogu elu, 3 aastat, 4,5 aastat, 37 aastat, umbes 30 aastat, pool aastat. Vastajate nimed on anonüümsuse huvides asendatud soost ja vanusest koosneva koodiga.

Tabel 1. Küsimustiku vastuste kokkuvõte

Vastaja kood	N37	N38	M16	N47	N45	N18	N46	N17
Sugu	Naine	Naine	Mees	Naine	Naine	Naine	Naine	Naine
Vanus	37	38	16	47	45	18	46	17
Kas ja millal on juukseid värvitud?	Ei	Ei	Mitte piisavalt hiljuti, et värv veeluustes oleks.	12 kuud enne proovi võtmist poevärviga.	4 nädalat enne proovi võtmist salongi värviga	Professionaalse värviga paar kuud enne proovi võtmist.	Kord kuus hennaga	Ei
Milline on toitumine?	Vastaja on omnivoorse toitumise ga maitseelistust e tõttu.	Vastaja on omnivoorse toitumise ga maitseelistust e tõttu.	Vastaja on omnivoorse toitumise ga maitseelistust e tõttu.	Vastaja on ovolaktopollo vegetaarlane ehk ei söö punast liha põhimõtte ja maitseelistust e pärast.	Vastaja on põhimõtte ete pärast vegan, enne seda oli vegetaarlane.	Vastaja on põhimõtte e pärast vegan, enne seda oli vegetaarlane	Vastaja on omnivoorse toitumise ga maitseelistust e tõttu.	Vastaja on põhimõtte te pärast hiljuti läinud üle vegetaarlusele, enne seda toitus omnivoorselt.

Mis loomset produkti ja kui tihti tarbib?	Valge ja punane liha, 5–6x nädalas	Valge liha, 3–4x nädalas	Valge liha, punane liha, muna ja piim 5–6x nädalas	Valge liha, kala ja muna, 5–6x nädalas	Ei tarbi loomseidprodukte	Ei tarbi loomseidprodukte	Valge liha, muna ja piim, 3–4x nädalas	Muna ja piim 5–6x nädalas
Kui rangelt peab toitumisharjumustest kinni?	Väga rangelt	Mitte rangelt	Väga rangelt	Harvad kõrvalekalded	Väga rangelt	Väga rangelt	Ei pea rangelt kinni	Ei pea rangelt kinni
Mis ajaperiood on sedasi toitunud?	Terve elu	Terve elu	Terve elu	30 aastat	3 aastat	4,5 aastat	Terve elu	Pool aastat
Kui palju on tarbinud C3 ja C4 taimi?	C3 taimi palju, C4 taimi vähe	C3 taimi keskmiselt, C4 taimi vähe	C3 taimi keskmiselt, C4 taimi vähe	C3 taimi palju, C4 taimi vähe	C3 taimi keskmiselt, C4 taimi vähe	C3 taimi palju, C4 taimi vähe	C3 taimi palju, C4 taimi vähe	C3 taimi palju, C4 taimi vähe

2.1.3. Eksperiment juuste matmisega

Ühe kaasaja inimese (N37) juustest eraldati proov, mis maeti 2021 juuniks-augustiks mulda (vt lisad 1 ja 2), et imiteerida arheoloogilisi säilmed ja tuvastada, kuivõrd avaldab pinnase keskkond mõju juuste isotoopide väärtustele. Karp mullas prooviga asetati maapinnast kõrgemale, et loomad/muud mõjutused proovi keskkonda ei hävitaks ning samas vihmavesi jm jõuaks proovini. Et valimisse kuulub ka arheoloogiline materjal, mis on veetnud aastaid keskkonnamõjude all, soovisid töö autor ja juhendajad uurida, kas ja kui palju võimalikud erinevused arheoloogilise

materjali ja tänapäeva inimeste SIA tulemustes võivad olla põhjustatud matmiskeskonna tingimustest.

2.1.4. Töö Archemy laboris TÜ analüütilise keemia õppetoolis

Praktiline töö TÜ Chemicumis kestis kokku 21 tundi. Töö algas 2021 juulis Archemy laboris TÜ analüütilise keemia õppetoolis, kus autor valmistas ette esimesed proovid. Kahe tänapäeva inimese (N37, N38) proovid jagas autor eeltöötuse kaupa kolmeks: a) ilma puhastuseta, b) MilliQ ülipuhta veega ja c) atsetooniga (C_3H_6O) puhastatuteks ning kahe inimese (N18, N46) proovid a) ilma puhastuseta ja b) MilliQ ülipuhta veega puhastatuteks. Atsetooniga töödeldavad proovid (vt lisa 4) asetati atsetooniga täidetud Petri tassidesse, kaeti fooliumiga ja pandi tõmbekappi kaheks tunniks (vt joonis 10). MilliQ-ga puhastatud proovid (vt lisa 4) pakiti peale 2–3 korda loputamist uue, puhta fooliumi sisse. Arheoloogilisi proove puhastati esmalt pintsettidega ja seejärel ettevaatlikult MilliQ-ga, et eemaldada peanaha tükke ja TÜ muumiapoisi puhul palsameerimise jäänuseid. Kui atsetoonis olevad proovid olid tõmbekapi all seismise lõpetanud, loputati neid MilliQ-ga ning pakiti uute puhaste fooliumitükkide sisse. Nii atsetooni kui ka MilliQ-ga töödeldud proovid asetati kuivatusahju üheks tunniks $85\text{ }^{\circ}\text{C}$ juurde kuivama.



Joonis 10. Kaks proovi Petri tassides atsetooni sees tõmbekapi all, kaetud fooliumiga.

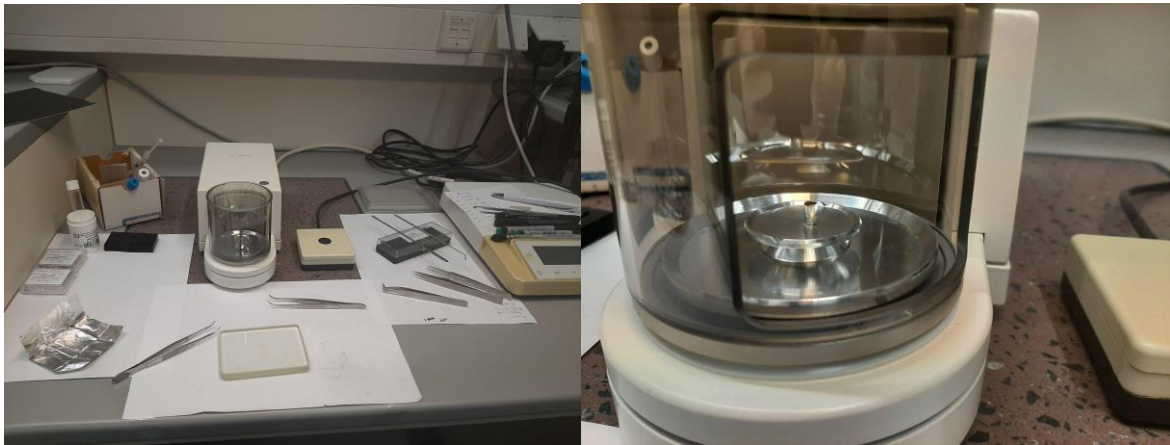
Töötlemata proovidega (vt lisa 4) alustas autor nende EA-IRMS jaoks väiksemaks lõikamist. Kääridega lõigati proov juurest otsani ca 1–2 mm pikkusteks tükkideks. Lõikamisel jälgiti hoolikalt, et proovid ei saastuks välismaterjaliga ega seguneks omavahel. Selleks pakiti proovid puhtasse fooliumisse ja märgiti andmetega. Iga proovi töötlemise vahel puhastati laud MilliQ veega ja kuivatati paberiga, pesti vee ja MilliQ-ga käärid ja pintsetid, vahetati alusfoolium ja kindad (vt joonis 11).



Joonis 11. Proovide tükeldamise töölaud.

2.1.5. Juuste kaalumine ja pakkimine isotoopväärtuste mõõtmiseks EA-IRMS-iga

TÜ Chemicumi geoloogia osakonna isotooplaboris kaaluti Sartorius Cubis mikrokaalu abil juuksed väikestesse tinakapslitesse (laius 3,5 mm, kõrgus 5 mm) ja pakiti need kokku nii, et kapsel oleks kettakujuline ja selle pind ühtlane (ei oleks lahtiseid juukseotsi, mis võivad EA-IRMS-is kinni jääda). Pakkimine vajas ülimat ettevaatlikkust ja tööpinna pidevat puhastamist, sest proovide segunemise korral oleks mõõtmistulemused olnud ebausaldusväärsed (vt joonis 12).



Joonis 12. Töölaud, kus toimus juuksekarvade kaalumine ja pakkimine ning Sartorius Cubis mikrokaal koos tinakapsliga avatud olekus.

Proovi mass pidi jääma vahemikku 0,700–1,100 mg, piirväärtustest erineva massiga kapsleid tuli vastavalt vajadusele muuta kergemaks või raskemaks ning panna tabelisse kirja täpne mass (vt joonis 13).

4	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	N18	N18	N46	N46	N18	N18	N46	N46				
	2.1	2.2	2.1	2.2	ATSET	ATSET	ATSET	ATSET				
A	1.078	0.995	0.919	1.048	0.984	0.803	0.788	0.784				
B												
C												
D												
E												
F												
G												
H												

Joonis 13. Tabel proovide ID-de ja massidega.

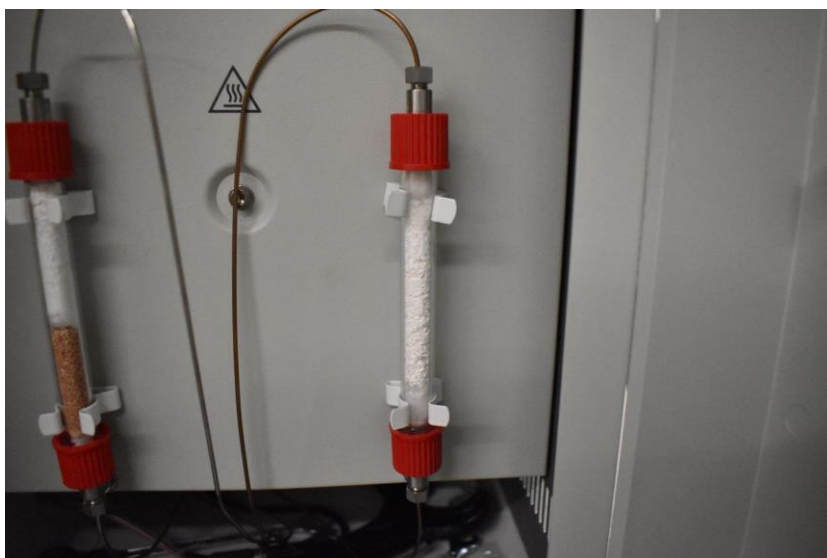
Mõni kapsel kukkus autoril klaasaluse kõrvale maha, mis tekitas võimaliku reostuse ja eksogeense süsiniku ja lämmastiku lisandumise ohu. Juhul kui töölaud oli visuaalselt küllaltki puhas ja proov ei kukkunud karvade sisse, tegi autor kukkunud proovidele juurde märke ja pakkis sama inimese juustest võimalusel ka teise proovi (ühel korral kolmest ei jätkunud selleks materjali). Autor õppis proovide ette valmistamist ja pakkimist juhendajatelt töö käigus (vt joonis 14).



Joonis 14. Autor õppimas proovide pakkimise tehnikat, juhendas Holar Sepp.

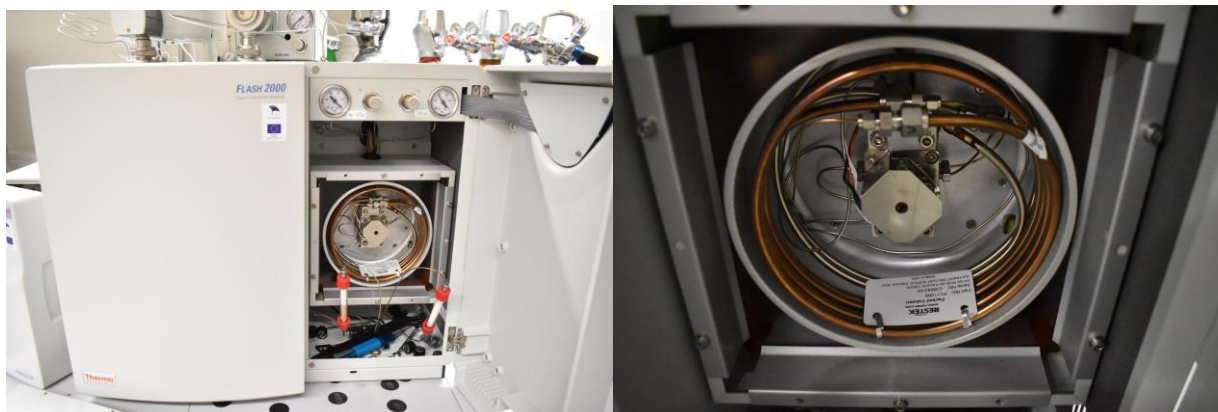
2.1.6. EA-IRMS töökäik

Proovid analüüsiti EA-IRMS süsteemiga Flash HT koos Delta V plus massspektromeetriga, tootjaks Thermo Fisher Scientific. Kõigepealt asetati proovid automaatsesse proovisöötjasse. Proovid kukkusid kambrisse, kus need voolutati heeliumiga kapsli ümber olevate atmosfääriliste gaaside eemaldamise eesmärgil, misjärel kukkusid need edasi puhta hapnikuga (99,995%) täidetud põletustorusse ehk reaktorisse. Seal põlesid proovid temperatuuril 1020 °C ning põlemise käigus muutus orgaaniline materjal juustes erinevateks gaasideks. Edasi läks proov „veelõksu“, mis oli täidetud ainega Dehydrite [$\text{Mg}(\text{ClO}_4)_2$] (vt joonis 15).



Joonis 15. Pildi keskel Dehydrite'ga täidetud kolonn.

Järgnevalt suunati gaaside segu gaaskoloni, mille abil eraldati CO_2 ja N_2 teineteisest ehk gaasid sisenesid kolonni seguna, kuid väljusid kolonnist erineval ajal (vt joonis 16).



Joonis 16. Kolonn, kus toimus gaaside eraldamine, ja TCD detektor.

Kolonnist väljuvate gaaside kogused mõõdeti TCD-nimelise detektoriga automaatselt, et välja selgitada proovis olnud algne süsiniku ja lämmastiku osakaal. Sealt edasi läksid gaasid üksteisest eraldatuna ConFlo IV seadmesse, mis suunas vajaliku koguse proovi IRMS seadmesse. Selles masina osas (IRMS, nimega Delta V Plus) toimus gaasiosakeste ioniseerimine, mis seejärel magnetite abil liikusid läbi vaakumtoru kambritesse, kus elektrisignaale võtsid vastu Faraday kollektorid. Ioonid tekitasid elektrivoolu, mille tugevust kollektorid mõõtsid. Saadud info edastati mööda optilist kaablit arvutisse, kus vastav programm (Isodat) arvutas tulemused ja kuvas graafikud (vt lisa 3). Ühe proovi mõõtmiseks kulus kokku umbes 10 minutit, lisaks mõõdeti alguses, mõõtmise keskel ning lõpus koos proovidega ka erinevaid standardeid, mis on vajalikud andmete kalibreerimiseks ja usaldusväärsuse kinnitamiseks.

2.1.7. Tulemuste analüüs ja korrastamine

Olles saanud praktilise töö tulemused tabelina kätte, arutati need läbi ka juhendajatega. Võrreldi küsimustiku vastuseid saadud tulemustega, otsustati, milliste andmete kohta koostada graafikuid ja töö autor õppis edasises analüüsis vajalike statistiliste meetodite kohta. Autor korrastas proovide andmetest juhindudes tulemused (vt lisa 4) ja koostas graafikud, millest suurem enamus olid punktgraafikud.

2.1.8. Andmete hankimisel kaasnenuid probleeme

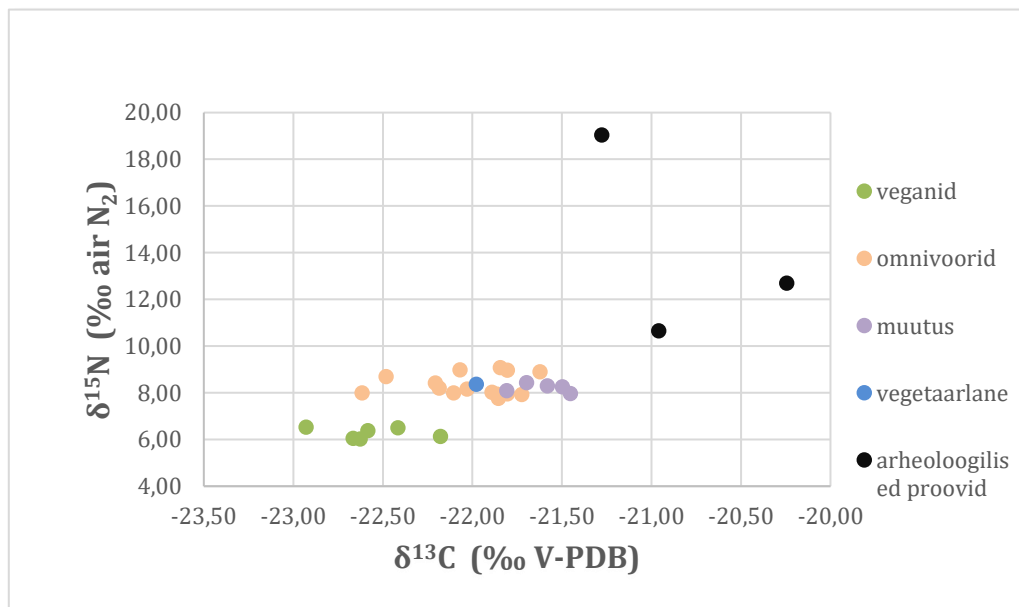
Pärast esialgsete tulemuste saamist, pidasid autor ja juhendajad vajalikuks töö usaldusväärsuse nimel teha hiljem veel neli proovi koos dublettidega. Seda tehti selleks, et kontrollida EA-IRMS usaldusväärsust, proovide puhtust ning et märgata erinevusi ühe juuksekarva lõikes. Kõigilt proove andnud inimestelt ei olnud piisavalt materjali, seega küsiti uued juuksekarvad kahelt inimeselt (N18 ja N46). Valiti inimesed, kes regulaarselt värvivad juukseid, et saaks ka uurida, kuidas mõjutab atsetooniga töötlemine eelnevalt juba töödeldud juukseid. Kokku tehti kaheksa lisaproovi.

3. TULEMUSED

Töö tulemused on esitatud tabelite, graafikute ja diagrammidena. Väljakujunenud traditsiooni järgi on graafikutel x-teljel $\delta^{13}\text{C}$ ja y-teljel $\delta^{15}\text{N}$ isotoopide väärtused. Proovide koguarv oli 34 (vt lisa 4). Neist 32 olid naiste ja 2 meeste, 17 omnivoorse toitumisega inimeste, 8 veganite ja 1 ovo-laktopollo vegetaarlane oma, 5 väljendasid omnivoor→vegetaarlane muutust ühe inimese puhul (edaspidi viidatud kui „muutus“ grupp) ja 3 olid arheoloogilistelt individidelt võetud proovid, kelle puhul toitumine ei ole teada.

Kogu valimi süsiniku isotoopide väärtused jäid vahemikku $-22,93\text{‰}$ – $-20,24\text{‰}$ ja lämmastiku väärtused vahemikku $6,00\text{‰}$ – $19,04\text{‰}$ (vt joonis 17). Dublettproovid on graafikutel ühe punktina, mille väärtused on kahe proovi keskmised, sest dublettide vahe jäi nii lämmastiku kui ka süsiniku puhul $0,15\text{‰}$ piiridesse. Pikaajaline korratavus EA-IRMS süsteemil on parem kui $0,2\text{‰}$ lämmastiku ja $0,1\text{‰}$ süsiniku puhul, mis on saadud standardite pikaajalisel korduval mõõtmisel.

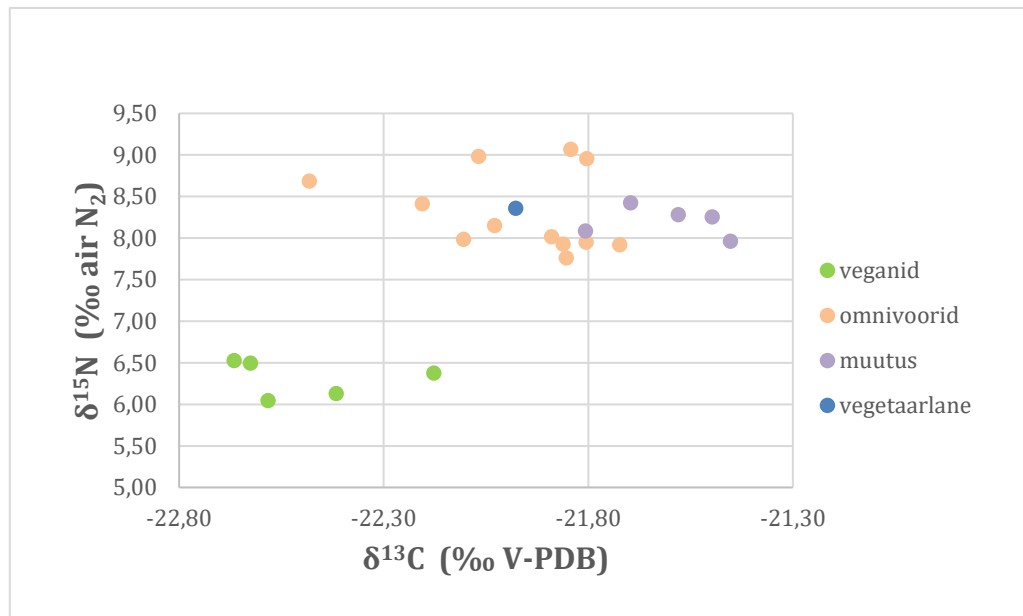
Kolm proovi (N18 ilma töötlusteta, N37 MilliQ vee töötlusega ja N37 maetud atsetooni töötlusega) kukkusid pakkides klaasaluselt maha. Kukkunud proovide puhul oli ainus suurem erinevus N37 MilliQ vee puhul $0,29\text{‰}$ lämmastiku väärtuses, ülejäänud proovide puhul olulisi muutusi ei esinenud.



Joonis 17. Kõigi analüüsitud proovide isotoopväärtused.

3.1. Toitumisgruppide erinevused

Üldiselt langesid kõigi samast toitumisgrupist inimeste tulemused graafikul kokku (vt joonis 18). Tänapäeva inimeste $\delta^{15}\text{N}$ väärtused olid vahemikus 6,00...9,07‰ (vahe 3,07‰) ja $\delta^{13}\text{C}$ väärtused vahemikus -22,93...-21,43‰ (vahe 1,5‰). Mõlema isotoobi väärtuste variatsioon on seega keskmine, st ei ole tavalisest variatsioonist suurem ega väiksem (Eriksson & Lidén, 2013). Graafikul on välja toodud iga indiviidi nii töötlemata kui ka töödeldud proovid.



Joonis 18. Toitumisgruppide isotoopide erinevus tänapäeva proovides.

Omnivooride $\delta^{15}\text{N}$ ja $\delta^{13}\text{C}$ isotoopide väärtused olid vahemikus 7,76‰...9,07‰ ja -22,62‰...-21,62‰. Veganite $\delta^{15}\text{N}$ väärtused olid tunduvalt madalamad kui omnivooridel või vegetaarlasel ja jäid vahemikku 6,00‰...6,50‰. Süsiniku väärtused kattusid veganite puhul suures osas omnivooridega: -22,93‰...-22,18‰. Ainsa vegetaarlase väärtused olid 8,36‰ $\delta^{15}\text{N}$ ja -21,98‰ $\delta^{13}\text{C}$ (vt Tabel 2). Kõige kõrgema $\delta^{15}\text{N}$ väärtusega proov oli N38 atsetooni töötlemisega proov (9,04‰), kõrgeima $\delta^{13}\text{C}$ väärtusega proov oli N17 0–5 cm (-21,45‰). Kõige madalama $\delta^{15}\text{N}$ väärtusega proov oli N18 oktoobris 2021 võetud proov (6,00‰), $\delta^{13}\text{C}$ väärtusega proov N45 (-22,93‰).

Tabel 2. Toitumisgruppide keskmised väärtused. (¹standardhälve)

Toitumine	Proovide arv	Keskmine $\delta^{15}\text{N} \pm \text{sh}^1$	Keskmine $\delta^{13}\text{C} \pm \text{sh}^1$
Vegan	6	6,26±0.21‰	-22,57±0.23‰
Vegetaarlane	1	8,36‰	-21,98‰
Omnivoor	14	8,31±0.46‰	-22,01±0.23‰

Tabelis 3 on välja toodud siinse uurimistöö, Ellegård *et al.* 2019, O'Connell & Hedges 1999 ja Bol & Pflieger 2002 toitumisgruppide leitud keskmised $\delta^{15}\text{N}$ ja $\delta^{13}\text{C}$ väärtused.

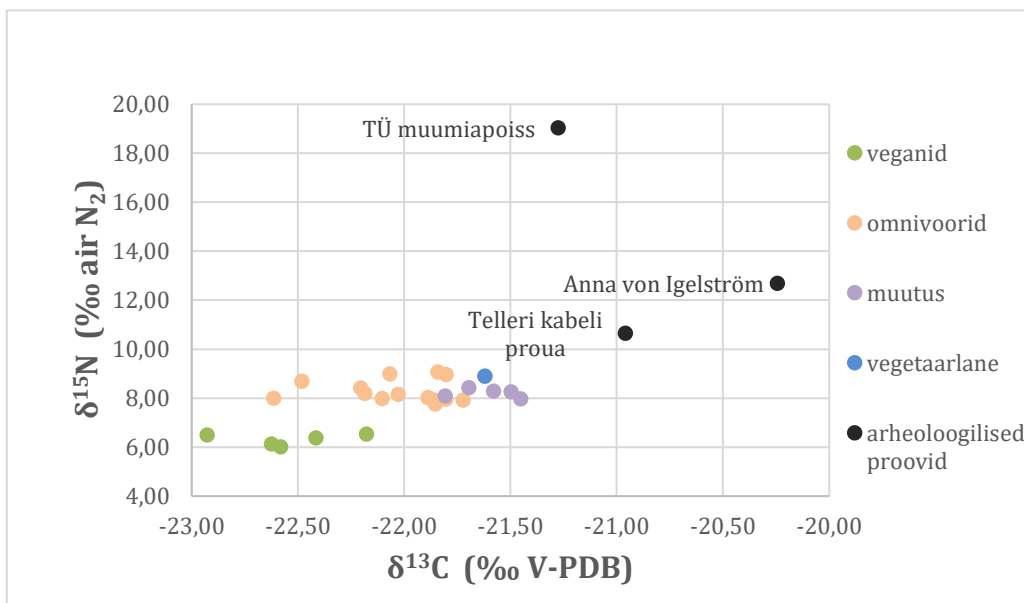
Tabel 3. Erinevate uurimistööde leitud keskmised $\delta^{15}\text{N}$ ja $\delta^{13}\text{C}$ väärtused toitumisgruppide kaupa.

Toitumine	Uurimus	Keskmine $\delta^{15}\text{N}$ (‰)	Keskmine $\delta^{13}\text{C}$ (‰)
Omnivoor			
	Antud uurimistöö	8,3	-22,0
	Ellegård <i>et al.</i> 2019	8,9	-20,9
	O'Connell & Hedges 1999	8,8	-20,2
	Bol & Pflieger 2002	9,8	-20,8
Vegetaarlane			
	Antud uurimistöö	8,4	-22,0
	Ellegård <i>et al.</i> 2019	7,6	-21,3
	O'Connell & Hedges 1999	8,5	-21,2
	Bol & Pflieger 2002	9,8	-20,8
Vegan			
	Antud uurimistöö	6,3	-22,6
	Ellegård <i>et al.</i> 2019	5,6	-21,3
	O'Connell & Hedges 1999	6,9	-20,9
	Bol & Pflieger 2002	6,7	-21,7

3.2. Arheoloogilised leiud võrreldes tänapäeva inimestega

Kõigi arheoloogiliste proovide $\delta^{13}\text{C}$ ja $\delta^{15}\text{N}$ väärtused olid oluliselt kõrgemad tänapäeva inimeste omadest. Jooniselt 19 on näha, kuidas kõigist proovidest kõrgeima $\delta^{15}\text{N}$ väärtusega on TÜ muumiapoiss ($\delta^{15}\text{N}$ 19,04‰, $\delta^{13}\text{C}$ -21,28‰), kelle proovi tulemus on rohkem kui kaks korda kõrgema $\delta^{15}\text{N}$ väärtusega kui kõige kõrgem tänapäeva inimese proov. Anna von Igelströmi juuste $\delta^{13}\text{C}$ väärtus oli samuti üleüldiselt kõigist proovidest kõrgeim (-20,24‰), $\delta^{15}\text{N}$ väärtuse poolest

teine kõige kõrgem (12,69‰). Telleri kabeli vanaproua oli kõige sarnasem tänapäeva inimestega, kuid sellegipoolest oluliselt kõrgemate $\delta^{15}\text{N}$ ja $\delta^{13}\text{C}$ väärtustega (10,65‰, -20,96‰).

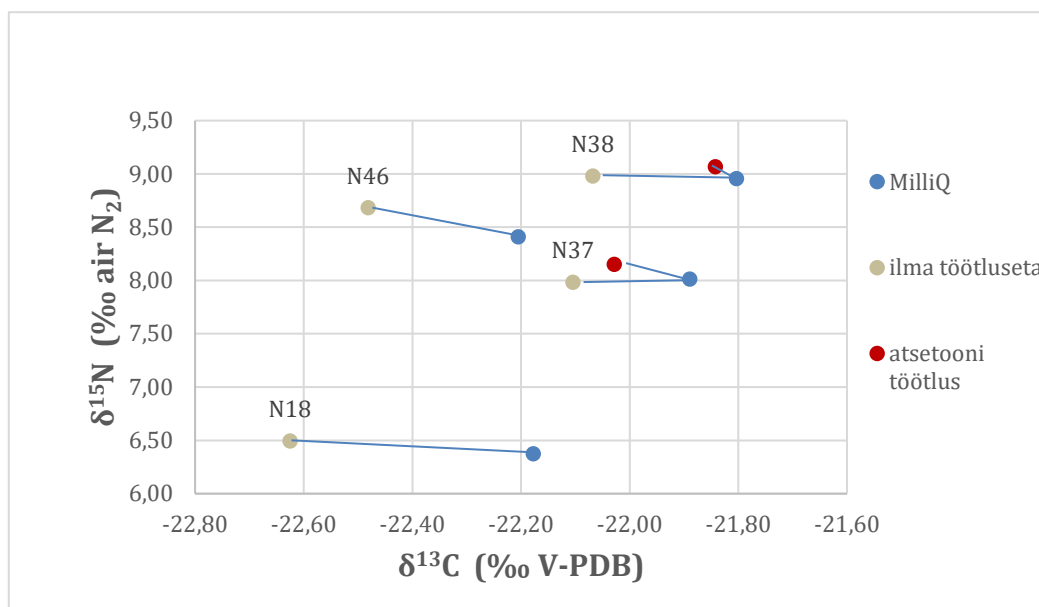


Joonis 19. Tänapäeva inimeste eri toitumisgruppide juuksekarvaproovide isotoobid võrreldes arheoloogiliste juusteproovidega.

3.3. Töötluste mõju tulemustele

Eeltöötlusega tänapäeva inimeste proove oli kokku 19, nendest 2 olid kukunud proovid, 4 hiljem tehtud dublettidega proovid, 3 maetud juuste proovid ja ülejäänud kolme omnivoori ja ühe vegani proovid. N46 ja N18 juukseid on enne proovide võtmist värvitud vastavalt henna ja poevärvidega, ülejäänud proovid on võetud värvimata juustega inimestelt.

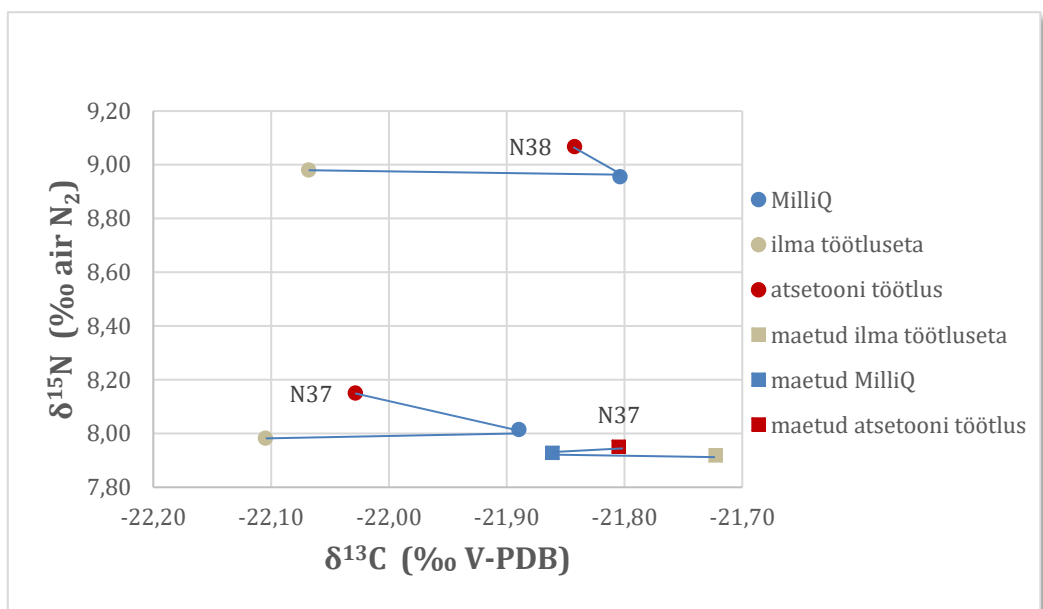
Suurim muutus $\delta^{15}\text{N}$ väärtustes oli 0,27‰ N46 ilma töötluseta (8,68‰) ja MilliQ ülipuhta vee töötlusega (8,41‰) proovide vahel, ülejäänud proovide eeltöötluste mõju väärtustele jäi vahemikku 0,17‰...0,03‰. Suurimad muutused $\delta^{13}\text{C}$ väärtustes oli 0,45‰ N18 ilma töötluseta (-22,63‰) ja MilliQ-ga töödeldud (-22,18‰) ja 0,43‰ N46 ilma töötluseta (-22,19‰) ja atsetooniga töödeldud (-22,62‰) proovide vahel, ülejäänud proovide eeltöötluste mõju väärtustele jäi vahemikku 0,27‰...0,07‰. Muutused $\delta^{13}\text{C}$ väärtustes olid kõigi inimeste proovide puhul sarnased: ilma töötluseta madalaim, MilliQ töötlusega proovil kõrgem ning atsetooni töötlusega proovil nende kahe väärtuse vahel. Lisaks tõstis atsetoon vähesel määral $\delta^{15}\text{N}$ väärtuseid (suurim muutus 0,27‰) (vt joonis 20).



Joonis 20. Ilma töötlusteta, MilliQ ülipuhta vee ja atsetooni töötlustega proovide erinevus 4 inimese juustes.

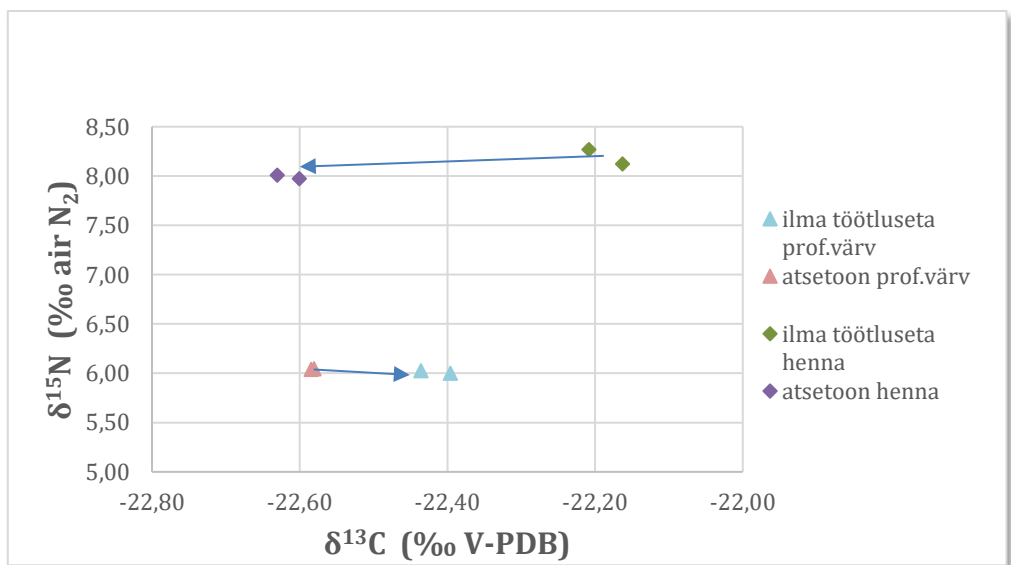
N37 maetud ning matmata juuste isotoopide väärtused ei erinenud üksteisest olulisel määral, st sama eeltötlusega maetud ning matmata juuste väärtuste vahe jäi madalamaks kui 0,4‰ (vt joonis 21). Ilma töötlusteta maetud ja matmata proovide $\delta^{15}\text{N}$ väärtuste vahe oli 0,06‰ (matmata proov 7,98‰ ja maetud 7,92‰) ja $\delta^{13}\text{C}$ väärtuste vahe oli 0,28‰ (matmata proov -22,10‰ ja maetud proov -21,72‰). Atsetooni töötluste puhul olid samad vahed 0,20‰ $\delta^{15}\text{N}$ (matmata 8,15‰ ja maetud 7,95‰) ja 0,23‰ $\delta^{13}\text{C}$ (matmata -22,03‰ ja maetud -21,80‰) ning MilliQ puhul 0,09‰ (matmata 8,02‰ ja maetud 7,93‰) ja 0,03‰ (matmata -21,89‰, maetud -21,86‰). Arvestades masina mõõtetäpsust ei saa nii väikesed muutusi nimetada oluliseks.

N38 juuste eeltötluste vahe on näha joonisel 21. Sarnaselt joonisel 20 on $\delta^{15}\text{N}$ väärtus madalam ilma töötlusteta (8,98‰) ja MilliQ töötlustega (8,96‰) proovide puhul ning kõrgem atsetooni töötluste (9,07‰) puhul. Kõrgeim $\delta^{13}\text{C}$ väärtus on MilliQ töötluste (-21,80‰) ja madalam ilma töötlusteta (-22,07‰) proovide puhul ning atsetoon (-21,84‰) jääb nende kahe vahele. Suurim muutus eeltötluste vahel on seega 0,27‰ ilma töötlusteta ja MilliQ töötluste puhul.



Joonis 21. Proovide N38 ja N37 maetud ning matmata juuste erinevate eeltöötluste vahe.

N46 (graafikul kõrgema $\delta^{15}\text{N}$ väärtusega) proovi juukseid on regulaarselt värvitud hennaga, N18 juukseid poevärvidega. Kummagi töötlusviisi puhul ei ole proovide atsetooniga töötlemine olulisel määral mõjutanud $\delta^{15}\text{N}$ väärtust, kuid $\delta^{13}\text{C}$ väärtus on hennaga värvitud juuste puhul langenud (0,43‰), poevärvidega värvitud juuste puhul tõusnud (0,16‰) (vt joonis 22).

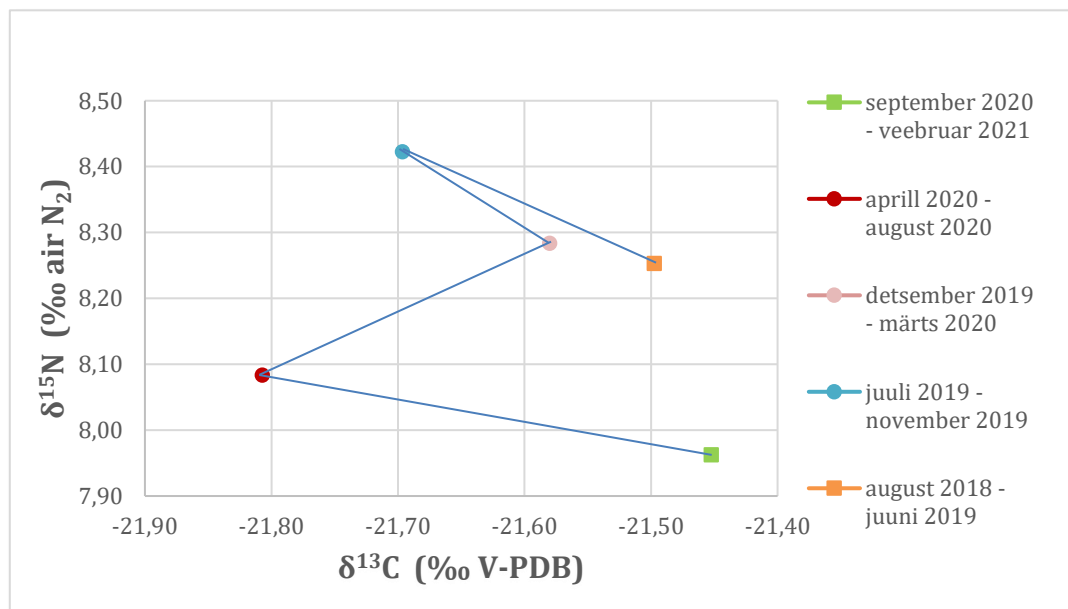


Joonis 22. Atsetooni mõju omnivoori ja vegani vastavalt henna ja poevärvidega regulaarselt töödeldud juustele.

3.4. Ajaline muutus ühe inimese juuksekarvas

Töö autor kasutas iseenda juukseid, et analüüsida, kuidas mõjutab toitumise muutus isotoopide väärtuseid. Ligikaudu 6 kuud (septembri alguses 2020) enne proovide võtmist oli autor hakanud tarbima rohkem taimset toitu ning teadlikult jätma liha oma toidulaualt kõrvale, näiteks vahetades koolimenüü taimetoidu peale (samas tarbis muna, piima ja kala ning harva väikestest kogustes liha).

Juuksejuurtest esimese 5 cm kaugusel (toitumine perioodil september 2020 kuni veebruar 2021) oleva proovi $\delta^{15}\text{N}$ ja $\delta^{13}\text{C}$ väärtused olid vastavalt 7,96‰ ja $-21,45\text{‰}$, mis on kõige madalama lämmastiku ja kõige kõrgema süsiniku väärtusega. 5–10 cm proovi (toitumine perioodil aprill 2020 kuni august 2020) lämmastiku väärtus oli kõrgem, samas süsiniku oma kõigist proovidest madalaim (8,08‰, $-21,81\text{‰}$), 10–15 cm proovi (toitumine perioodil detsember 2019 kuni märts 2020) väärtused olid vastavalt 8,28‰ ja $-21,58\text{‰}$. 15–20 cm proovi (toitumine perioodil juuli 2019 kuni november 2019) väärtused 8,42‰ ja $-21,70\text{‰}$ (kõige kõrgem lämmastiku väärtus) ning 20–30cm proovi (toitumine perioodil august 2018 kuni juuni 2019) väärtused 8,25‰ ja $-21,50\text{‰}$ (vt joonis 23).



Joonis 23. Töö autori juuste ajaline muutus lämmastiku ja süsiniku isotoopide hulgas, kus 1 cm vastab umbes ühele kuule.

4. ARUTELU

4.1. Toitumisgruppide erinevused

Uurimistöös leiti, et EA-IRMS on usaldusväärne meetod veganite ja omnivooride toitumise selgeks eristamiseks $\delta^{15}\text{N}$ ja $\delta^{13}\text{C}$ isotoopide väärtuste põhjal. Varem Rootsis ja Inglismaal läbi viidud uurimused on leidnud, et veganite keskmine $\delta^{15}\text{N}$ väärtus on 5,6‰ (Ellegård *et al.*, 2019), 6,9‰ (O'Connell & Hedges, 1999) ja 6,7‰ (Bol & Pflieger, 2002), mis erineb keskmiselt 0,58‰ võrra siinses uurimistöös leitud. Veganite süsiniku $\delta^{13}\text{C}$ väärtuste keskmine samades uurimustes erineb uurimistöös leitud keskmiselt 1,27‰ (võrreldes -21,3‰ (Ellegård *et al.*, 2019), -20,9‰ (O'Connell & Hedges, 1999) ja -21,7‰ (Bol & Pflieger, 2002) (vt tabel 3).

Vegetaarlaste keskmised $\delta^{15}\text{N}$ ja $\delta^{13}\text{C}$ väärtused samades uurimustes on 7,6‰ ja -21,3‰ (Ellegård *et al.*, 2019), 8,5‰ ja -21,2‰ (O'Connell & Hedges, 1999) ja 9,8‰ ja -20,8‰ (Bol & Pflieger, 2002). Uurimistöö tulemustest erinevad lämmastiku väärtused keskmiselt 0,4‰ ja süsiniku väärtused keskmiselt 0,8‰ (vt tabel 3).

Omnivooride $\delta^{15}\text{N}$ ja $\delta^{13}\text{C}$ väärtused töös olid keskmiselt 8,3‰ ja -22,0‰, mis on vastavalt ligikaudu 0,9‰ ja 1,4‰ erinevad varasemalt leitud keskmistest (8,9‰ ja -20,9‰ (Ellegård *et al.*, 2019), 8,8‰ ja -20,2‰ (O'Connell & Hedges, 1999), 9,8‰ ja -20,8‰ (Bol & Pflieger, 2002) (vt tabel 3).

Omnivoorid erinesid antud uurimistöös vegetaarasest 0,1‰ $\delta^{15}\text{N}$ ja 0‰ $\delta^{13}\text{C}$ puhul ning erinevused vegetaarlaste ja veganite vahel olid 2,1‰ $\delta^{15}\text{N}$ ja 0,6‰ $\delta^{13}\text{C}$. Veganite ja omnivooride väärtuste vahe oli 2‰ $\delta^{15}\text{N}$ ja 0,6‰ $\delta^{13}\text{C}$ (ümardatud ühe komakoha täpsusega). Leitud erinevused toitumisgruppide vahel sarnanesid varem leitud erinevustega veganite ja vegetaarlaste vahel (2,0‰ $\delta^{15}\text{N}$ ja 0,3‰ $\delta^{13}\text{C}$), kuid erinesid oluliselt vegetaarlaste ja omnivooride vahest (1,3‰ $\delta^{15}\text{N}$ ja 0,1‰ $\delta^{13}\text{C}$) (Ellegård *et al.*, 2019). Kuna vegetaarlaste toitumine on tihtipeale n-ö „segu“ veganite ja omnivooride toitumisest, on selline tulemus ootuspärane.

Antud uurimistöö valimisse kuulus eri toitumisgruppide esindajaid vähe, mistõttu võisid ka keskmised väärtused veganitele, vegetaarlastele ja omnivooridele tulla varasematest suurema valimiga uurimustest erinevad. Igal juhul on valimit suurendades juuste kui mitte-destruktiivse proovimaterjali EA-IRMS analüüs väga potentsiaalikas meetod lämmastiku ja süsiniku põhjal inimese toitumise uurimiseks. Uurimistöö tulemuste põhjal saab selgelt teha vahet veganite ja omnivooride vahel, kusjuures rohkem liha tarbivate omnivooride lämmastiku väärtused on keskmisest kõrgemad (nt proov M16 $\delta^{15}\text{N}$ väärtusega 8,89‰ ja N38 väärtusega 8,98‰, mille puhul mõlemad proovi andnud inimesed tarbivad nädalas 3–6x liha).

4.2. Arheoloogilised leiud võrreldes tänapäeva inimestega

Uurimistöe arheoloogilisse materjali hulka kuulus üks proov Egiptuse muumialt ja kaks proovi kõrgemast seisusest Eestis elanud naiselt. Nii Anna von Igelströmi, Telleri kabeli proua kui TÜ muumiapoisil lämmastiku ja süsiniku väärtused erinesid oluliselt tänapäeva inimeste proovide väärtustest, olles mõlema isotoobi puhul oluliselt kõrgemad (vt lisa 4).

Arheoloogilistest proovidest kõige ekstreemsema isotoopanalüüsi tulemusega oli TÜ muumiapoisil, kelle väärtused olid $\delta^{15}\text{N}$ 19,04‰ ja $\delta^{13}\text{C}$ -21,28‰. Need väärtused ei ühti ühegi uuritud tänapäeva inimeste toitumisgrupiga. Ülikõrge lämmastiku väärtus lubab oletada, et noorelt surnud poisil toidulaud võis olla peamiselt merelise päritoluga (Schoeninger & DeNiro, 1984) ning ta võis mõned kuud enne suremist nälgida (Mekota *et al.*, 2006), mis tõstnuks ta lämmastiku väärtuseid ligi 4‰ (Doi, Akamatsu, & González, 2017). Samuti suri poisil noorelt, mis võib viidata ema rinnapiima mõjutustele lämmastiku väärtustes (O'Connell & Hedges, 1999).

Macko *et al.* 1999 uurisid kopte (ning nende toidulauale kuuluvaid kuivatatud toiduaineid) ja hilise Egiptuse Keskriigi muumiaid, mis olid pärit ligikaudu samast piirkonnast, kusjuures muumiate $\delta^{15}\text{N}$ väärtused olid TÜ muumiapoisile sarnaselt kõrged (koptide puhul vahemikus 8‰...18‰, Keskriigi muumiate puhul vahemikus 14‰...16,5‰). Koptide süsiniku väärtused olid vahemikus -20‰...-12‰, Keskriigi muumiate väärtused olid rohkem antud uurimistöe tänapäeva inimestele sarnased, olles ligikaudu -24‰...-20‰. Macko *et al.* 1999 teoretiseerisid, et kõrgemad väärtused võivad tuleneda väga varieeruvast toidulauast nii loomse kui taimse produkti, C3- ja C4-tüüpi taimede osas. Lisaks olid regioonist pärit kuivanud taimede, kalade ja karpide süsiniku väärtused sarnased samade taimede süsiniku väärtustega tänapäeval, kuid lämmastiku väärtused olid oluliselt rikastatud, küündides kuni 12,3‰-ni (Macko *et al.*, 1999).

Anna von Igelströmi (29.9.1732–13.06.1760) lämmastiku ja süsiniku väärtused sarnanevad rohkem keskmistele omnivooridele ($\delta^{15}\text{N}$ 12,69‰ ja $\delta^{13}\text{C}$ -20,24‰), kuid pigem viitavad siiski C4-tüüpi taimede (suhkru, hirsil) osalusele toitumises C3-tüüpi taimede kõrval (Schoeninger & Moore, 1992), mereandide või liha suurele osakaalule toitumises (Schoeninger *et al.*, 1983; Schoeninger & DeNiro, 1984), või ka nälgimisele (Mekota *et al.*, 2006; Mekota *et al.* 2009), kuid viimane tundub tema seisust arvestades ebatõenäoline.

Telleri kabeli proua juuste isotoopide väärtuseid ($\delta^{15}\text{N}$ 10,65‰ ja $\delta^{13}\text{C}$ -20,96‰) võiks pidada rikkaliku toidulauaga (kust ei puudu näiteks C4-tüüpi suhkruroost pärit suhkur (Schoeninger & Moore, 1992) rohkelt liha ja kala tarbiva inimese omadeks (Schoeninger *et al.*, 1983; O'Connell & Hedges, 1999), mis tundub võimalik, arvestades tema seisust ja luude põhjal diagnoositud ülekaalulisust ning II tüüpi diabeeti (Tvauri & Malve, 2017).

Nii O'Connell ja Hedges 1999 kui ka Macko *et al.* 1999 on toonud välja, et juuste isotoopide väärtused ei muutu ajas lagunemise või saastatuse (ingl *contaminating condensation reactions*) tõttu, seega ei ole tavalisest kõrgemad väärtused uurimistöo arheoloogiliste proovide tulemustes sellega seotud. On võimalik, et proovide MilliQ veega puhastamisel ei suudetud eemaldada kõiki võõrmaterjale ja see on (eriti TÜ muumiaposisi võimalike palsameerimise jäänuste puhul) mõjutanud saadud tulemusi. Kuna ei atsetooni ega MilliQ ülipuhta vee töötlus antud uurimustöös ei mõjutanud suurel määral lämmastiku ega süsiniku väärtuseid, võiksid need olla arheoloogiliste proovide puhul kasutatavad puhastusmeetodid ka tulevikus.

4.3. Töötluste mõju tulemustele

Uurimistöo tulemuste põhjal saab väita, et atsetooni ja MilliQ ülipuhta vee töötlus, matmine ja juuksevärvidega töödeldud juuste eeltöötlemine ei muuda oluliselt juuste isotoopide väärtuseid, kuid teatavat korduvust nende mõjus võib märgata. Suurim muutus ilma töötluseta ning kas MilliQ või atsetooniga töödeldud juuste isotoopide väärtuste vahel oli $-0,27\%$ lämmastiku ja $+0,45\%$ süsiniku puhul. Keskmiselt mõjutas lämmastiku ja süsiniku väärtuseid atsetoon vastavalt $0,106\%$ ja $0,19\%$ ning MilliQ $0,094\%$ ja $0,268\%$.

Joonistel 20, 21 ja 22 võib märgata mustrit, kus ilma töötluseta proov on kõige madalama süsiniku väärtusega ja MilliQ töötlusega proov kõige kõrgema süsiniku väärtusega (v.a N37 maetud juuste puhul, kus MilliQ vee ja ilma töötluseta proovid asetsevad graafikul vastupidiselt). Atsetooni töötlus jääb süsiniku väärtuse poolest nende kahe vahele ja selle lämmastiku väärtus on kergelt kõrgem. Ellegård *et al.* 2019 kasutasid oma töös juuste puhastamiseks samuti atsetooni, kuid kuna nad ei analüüsinud ilma töötluseta proove, ei kinnita nende uurimus siinse uurimistöo tulemusi. Siiski langesid Ellegård *et al.* 2019 tulemused üldjuhul kokku varasemate uurimuste ja antud uurimistöoga, seega ei tundu atsetoon muutvat proovi väärtust tüüpilisest variatsioonist erinevaks. Nähtust võiks potentsiaalselt IRMS-iga töötades edasi uurida, kuid olulist mõju tänapäeva juustele ei täheldatud.

Juuste matmine kaheks kuuks ei muutnud oluliselt nende isotoopide väärtuseid. Jooniselt 21 näeme, et nii maetud kui matmata juuste puhul võib näha sarnast mustrit joonisel 20 nähtuga, v.a maetud ilma töötluseta ja MilliQ töötlusega proovide vahel. Nende kahe proovi puhul on MilliQ proovil süsiniku väärtus madalam. Maetud juuste väärtused olid matmata juuste omadest lämmastiku poolest madalamad ja süsiniku poolest positiivsemad. Üldiselt aga jäid kõikumised interpretatsiooni seisukohalt minimaalseks.

Värvitud juustele mõjus atsetooni töötlus erinevalt. Lämmastiku väärtused ei muutunud töötlusega ja süsiniku väärtused muutusid minimaalselt. Hennaga värvitud juuste puhul muutis atsetoon süsiniku väärtuse madalamaks, poevärvidega värvitud juuste puhul kõrgemaks.

Eeltöötluste ja matmise mõju eri juustele saaks kindlasti edasi uurida, näiteks võrrelda sama inimese juustest võetud värvimata ja henna/poevärvidega värvitud proovi väärtuseid või matta juuksed mulda pikemaks perioodiks ja seejärel eri eeltöötluste mõju uurida.

4.4. Ajaline muutus ühe inimese juuksekarvas

Inimeste juuksed kasvavad umbes 1 cm kuus (Saitoh *et al.*, 1970) ja on täheldatud, et toitumise muutmine tagab muutuse isotoopsignaalis ligikaudu 6–12 päevaga (Nakamura *et al.*, 1982), seega peaks sentimeetrite kaupa saama uurida ühe inimese toitumise muutust ajas. Siinse uurimistöö tulemused kinnitavad seda – töö autori juuste ajalise muutumise uurimisel leiti, et taimetoidulisemale toitumisele üleminek mõjutab (eelkõige) lämmastiku väärtuseid. Ligikaudu 5 kuud enne proovide võtmist, septembris 2020, hakkas töö autor koolis iga päev valima einet taimetoidu menüüst ning ka mujal teadlikult vähendama liha osakaalu oma toidulaual.

N17 juustest tehtud proovid 20–30 cm, 15–20 cm ja 10–15 cm langesid graafikul enam-vähem ühele alale (vt joonis 23) minimaalsete erinevustega (vähem kui 0,2‰) lämmastiku ja süsiniku väärtustes, mis näitab, et sel ajaperioodil erilist muutust toitumises ei olnud. On võimalik, et suve ja talveperioodidel oli eri C3- ja C4-tüüpi taimede/toitude olemasolu toidulaual erinev või mõjutas näiteks suvine „grillihooaeg“ ja muutused isudes, mis reguleerisid liha osakaalu toitumises (Schoeninger & Moore, 1992).

Toitumine perioodil august 2018 kuni juuni 2019 (20–30 cm proov) väljendus väärtustes 8,25‰ $\delta^{15}\text{N}$ ja $-21,50\text{‰}$ $\delta^{13}\text{C}$, mis langeb uurimistöös selgelt omnivooride gruppi. Perioodil juuli 2019 kuni november 2019 (15–20 cm proov, väärtused 8,42‰ $\delta^{15}\text{N}$ ja $-21,70\text{‰}$ $\delta^{13}\text{C}$) on lämmastiku väärtused kõigist 5-st proovist kõige kõrgemad, süsinik on kõrgem kui proovidel, mis on ajaliselt enne ja peale seda (muutus $+0,17\text{‰}$ ja $-0,20\text{‰}$). Toitumine perioodil detsember 2019 kuni märts 2020 (10–15 cm proov) väljendus isotoopide väärtustes 8,28‰ $\delta^{15}\text{N}$ ja $-21,58\text{‰}$ $\delta^{13}\text{C}$ (muutus $-0,14\text{‰}$ ja $-0,12\text{‰}$). Aprill 2020 kuni august 2020 (5–10 cm proov, väärtused 8,08‰ $\delta^{15}\text{N}$ ja $-21,81\text{‰}$ $\delta^{13}\text{C}$) oli sisaldas töö autori toidulaud juba selgelt vähem liha võrreldes 15–20 cm prooviga (muutus $-0,2\text{‰}$ ja $-0,23\text{‰}$). Perioodil september 2020 kuni veebruar 2021 (0–5 cm proov, väärtused 7,96‰ $\delta^{15}\text{N}$ ja $-21,45\text{‰}$ $\delta^{13}\text{C}$) olid lämmastiku väärtused eelneva perioodiga langenud ja süsiniku väärtused tõusnud (muutus $-0,12\text{‰}$ ja $+0,36\text{‰}$).

Nagu uurimistöo tulemused kinnitavad, aitavad erinevaid toitumisgruppe määrata lämmastiku isotoobi väärtused. Kõige kõrgema lämmastiku väärtusega 15–20 cm proovi ja kõige madalama väärtusega 0–5 cm proovi $\delta^{15}\text{N}$ väärtuste vahe oli 0,46 ‰, mis on piisavalt lai vahemik, et seda ei saa põhjendada mõõtemääramatusega. Seega on üleminek omnivoorselt vegetaarsele toitumisele $\delta^{15}\text{N}$ ja $\delta^{13}\text{C}$ isotoopide väärtuste abil jälgitav.

Arvestades, et omnivoore ja vegetaarlasi ei ole tihti võimalik teineteisest isotoopide väärtuste põhjal eristada (O'Connell & Hedges, 1999; Ellegård *et al.*, 2019), saaks toitumise muutuse mõjusid ühe inimese juustest ilmselt paremini kinnitada näiteks omnivoorselt toitumiselt veganlusele ülemineku uurimisel. Samuti võiks hooajalise toitumise muutused $\delta^{15}\text{N}$ ja $\delta^{13}\text{C}$ väärtustes olla potentsiaalne huviobjekt edasiseks uurimiseks. Juuste eraldamine 5 cm pikkusteks juppideks tundub olevat optimaalne.

KOKKUVÕTE

Inimese keha kudede, näiteks luustiku või juuksekarvade põhjal analüüsitud info tõlgendamine on arheoloogias, kohtuekspertiisis ja teistes valdkondades väga oluline. Isotoopide massisuhte spektromeetria (IRMS) on kiiresti populaarsust koguv inimkeha kudede analüüsimeetod, mis on tõestanud oma usaldusväärsust toitumise määramisel nii luu kollageeni, hamba dentiini kui ka juukse keratiini puhul. Varasemates uurimustes välismaal on leitud, et juukse keratiini lämmastiku ja süsiniku raskemate isotoopide suhete abil saab oletada, milline on olnud inimese loomse ja taimse produkti osakaal toitumises. Eestis sellised uurimused varem tehtud ei olnud, mistõttu on siinne uurimistöö selles valdkonnas esimene.

Uurimistöö eesmärk oli a) anda ülevaade tänapäeva ja arheoloogiliste inimeste toitumisest juuste keratiini isotoopanalüüside kaudu, sealjuures tutvustada varasemaid sarnaseid uuringuid ja b) tuvastada laboritingimustes tehtud proovi eeltötluse mõju tänapäeva ja arheoloogiliste juuste isotoopanalüüside tulemustele. Töö praktiline pool viidi läbi TÜ Chemicumi Archemy laboris analüütilise keemia õppetoolis ja geoloogia osakonna isotooplaboris, kus analüüsiti töö raames tänapäeva omnivooride, veganite ja vegetaarlaste ning kolme arheoloogilise isiku, Anna von Igelströmi, Telleri kabeli proua ja TÜ noorema muumiapoisi juuste süsiniku ja lämmastiku ^{13}C ja ^{15}N isotoopide massisuhteid.

Leiti, et veganeid ja omnivoore on võimalik teineteisest selgelt eristada ^{15}N väärtuste, kuid mitte ^{13}C väärtuste põhjal ning valimis olnud vegetaarlane oli väga omnivoorse toitumisega inimeste sarnane. Atsetooni ja MilliQ ülipuhta vee tötlustel oli isotoopide väärtustele väike, kuid arvestatav mõju – atsetoon tõstis $\delta^{15}\text{N}$ ja $\delta^{13}\text{C}$ väärtust ning MilliQ vesi tõstis $\delta^{13}\text{C}$ väärtust. Arheoloogiliste proovide isotoopide väärtused olid tänapäeva inimeste väärtustest oluliselt kõrgemad mõlema isotoobi puhul. Anna von Igelströmi ja Telleri kabeli proua puhul viitab see liha, aga eriti kala ja merelise toidu suurele osakaalule toitumises. TÜ noorema muumiapoisi toitumine võis tema lühikese elu jooksul samuti olla merelise päritoluga ning enne surma võis esineda näljaperiood.

Uurimistöö tulemuste põhjal võib väita, et IRMS meetodil juuste keratiinist süsiniku ja lämmastiku stabiilsete isotoopide analüüsimine on usaldusväärne ning sellel on mitmeid edasiarendamise ja -uurimise võimalusi.

SUMMARY

IDENTIFYING DIET BASED ON HAIR ISOTOPIC ANALYSIS: A CASE STUDY OF MODERN AND ARCHEOLOGICAL MATERIAL

Carbon and nitrogen stable isotope analysis (SIA) of body tissues is one of the few techniques that can offer quantitative information about the diet of modern and archaeological humans.

Diet of archaeological humans has usually been studied using bone collagen, as bones are oftentimes the only sample material recovered and because of their longer turnover period, they reflect the diet consumed over around 10 years. However, bone collagen isotope values can be altered by diagenesis or contaminating condensation reactions and it is not readily available sample material for modern humans. Hair keratin offers a non-invasive sampling material that reflects closely the diet consumed.

In this case study, hair samples from 8 modern humans (5 omnivores, 1 vegetarian and 2 vegans) and 3 archaeological humans were gathered. Hair samples of Anna von Igelström (29.9.1732–13.06.1760), Lady of the Teller chapel (ca 19th century) and a young mummy boy (ca 350-50 BC) were donated to the study by the University of Tartu.

Four main aspects of the study were to a) differentiate diet groups based on their carbon $\delta^{13}\text{C}$ and nitrogen $\delta^{15}\text{N}$ isotope values, b) compare the results of archaeological human hair to the ones of modern human hair, c) investigate into the effect of acetone and MilliQ Ultrapure water treatment and being buried for a set period of time on the $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ isotope values of hair and d) study how a change of diet from omnivorous to vegetarian reflects on hair carbon and nitrogen isotope values. The analysis was done using the EA-IRMS (elemental analysis isotope ratio mass spectrometry) system Flash HT with Delta V plus mass spectrometer (producer Thermo Fisher Scientific).

Numerous studies have shown that hair keratin carbon and nitrogen values correlate positively with the diet consumed, nitrogen values being 2-3‰ and carbon values 1-2‰ enriched, meaning that carnivores have a higher $\delta^{15}\text{N}$ value than herbivores on which they feed, who in turn have a higher nitrogen value than plants (DeNiro and Epstein, 1978; DeNiro and Epstein, 1981; Ambrose & DeNiro, 1986). This is called the trophic level effect, which lets us argue that a higher proportion of animal product (meat, milk, eggs, seafood etc) in diet results in a more positive $\delta^{15}\text{N}$ value in consumer (O'Connell & Hedges, 1999; Ellegård *et al.*, 2019; Schoeninger & DeNiro, 1983; Petzke *et al.*, 2005). Carbon $\delta^{13}\text{C}$ isotope values are affected mostly by the intake of marine, terrestrial,

C3 and C4 plants by the consumer and the animals in their diet (Ambrose & DeNiro, 1986; Schoeninger & Moore, 1992).

The mean nitrogen and carbon isotope values of omnivores, vegetarian and vegans were found to be $8,31 \pm 0.46\text{‰}$, $8,36\text{‰}$, $6,26 \pm 0.21\text{‰}$ and $-22,01 \pm 0.23\text{‰}$, $-21,98\text{‰}$, $-22,57 \pm 0.23\text{‰}$, respectively. Vegans and omnivores could be differentiated very well by their $\delta^{15}\text{N}$ isotope values, but not so clearly by $\delta^{13}\text{C}$ values. However, the vegetarian's nitrogen and carbon isotope values could have been mistaken for the ones of an omnivore without any background information. Previous studies have all been able to separate vegans from omnivores based on their $\delta^{15}\text{N}$ values and some also by their $\delta^{13}\text{C}$ values, but vegetarians have here and there been unidentifiable from omnivores by either of the two isotopes values (Ellegård *et al.*, 2019, O'Connell & Hedges, 1999; Bol & Pflieger, 2002). Since vegetarianism is a broad spectrum with different complementary animal protein preferences (WHO), this is not unexpected.

All of the archaeological samples had both nitrogen and carbon isotope values more positive than those of modern human's. Anna von Igelström's and Lady of the Teller chapel's values allow us to predict a very high proportion of meat, but rather fish and seafood in their diet (Schoeninger & DeNiro) as they were part of the higher class (Tvauri & Malve, 2017; Tartu Linnamuuseum, 2021). Very unusually high nitrogen values for the young mummy boy may be caused by embalming residue/chemical reactions in hair keratin (Oras *et al.*, 2020), or starvation (Mekota *et al.*, 2006), but rather refer to eating a hugely varying diet consisting of different types of meat, marine foods (Schoeninger & DeNiro, Tauber *et al.*), C4- and C3-plants (Schoeninger & Moore, 1992, Macko *et al.*, 1999).

The values of untreated samples and samples treated with acetone and MilliQ Ultrapure water show a pattern, where acetone has slightly elevated nitrogen and carbon values and MilliQ Ultrapure water elevated only carbon values. The changes are to be considered small (Eriksson & Lidén, 2013), but could potentially be studied further. Acetone treatment lowered the carbon values of samples having been coloured using henna and elevated carbon values of samples having been coloured using professional hair colours. Three samples from an omnivore that were buried for two months showed a slight change towards the negative for nitrogen isotope and towards the positive for carbon isotope. A longer burial period could potentially affect the isotope values even more, which could also be an interest of further investigation.

The change from omnivorous to vegetarian diet reflected nicely on the carbon and nitrogen values of hair. During sampling, the hair length was cut after every 5 centimetres, as 1 month of diet is reflected in around 1 cm of hair (Saitoh, Uzuka, & Sakamoto, 1970). About 6 months pre-sampling,

the individual had consciously started eating more plant-based and leaving meat out of their diet. This was very well seen from the nitrogen values of the samples, as samples taken 10-30 cm from the hair root fell into the same area, but 0–5 cm and the 5–10 cm sample were significantly lower than the highest nitrogen value sample. Results of the study thus allow us to believe changes in diet can be documented using nitrogen and carbon isotope values.

This study concludes that SIA shows a huge potential of further investigation. EA-IRMS stable isotope analysis of hair keratin carbon $\delta^{13}\text{C}$ and nitrogen $\delta^{15}\text{N}$ isotope values offer a valuable insight to the diet consumed as vegans and omnivores can almost always be differentiated from each other, meanwhile vegetarians may be very similar to omnivores. Anna von Igelström and Lady of the Teller chapel seem to have eaten a diet rich in meat and seafoods, however the young mummy boy may have consumed various C4- or C3 plants, seafood, or starved. Treatment of hair does not change the isotope values in the magnitude that samples would be confused for other diet or living organism groups but might alter them a little. Change in diet can be noticed mainly by the nitrogen isotope values in hair keratin, which is unsurprising given the results of modern-day food groups.

KASUTATUD ALLIKAD

Agurauja-Lätti, Ü. 2011. Stabiilsed isotoobid paleoökoloogia indikaatoritena Hollandi paleozooloogilise materjali põhjal. Magistritöö. Tartu Ülikool, Filosoofia teaduskond.

Agurauja-Lätti, Ü., & Lõugas, L. 2019. Stable isotope evidence for medieval diet in urban and rural northern Estonia. *Journal of Archaeological Science: Reports*, 26(7). Kättesaadav: doi:<https://doi.org/10.1016/j.jasrep.2019.101901>.

Ambrose, S., & DeNiro, M. 1986. a. The isotopic ecology of East African mammals. *Oecologia*, 69, lk 395–406. Kättesaadav: doi:<https://doi.org/10.1007/BF00377062>.

Anna Elisabeth von Münnichi sarkofaag 2008. Tartu linna kultuuriväärtusega asjade ja mälestiste register. Kättesaadav: <https://info.raad.tartu.ee/muinsus.nsf/0/A2DD8A4A1A660104422568F2002B5BEC> (02.05.2022).

Atkins, P., & Jones, L. 2008. Keemia alused: Teekond teadmiste juurde. New York, Basingstoke, USA: W.H. Freeman and Company.

Bartelink, E. J., MacKinnon, A. T., Prince-Buitenhuys, J., & Tipple, B. J. 2016. Stable Isotope Forensics as an Investigative Tool in Missing Persons Investigations. rmt: S. Morewitz, & S. Colls, *Handbook of missing persons* (lk 443–462). Springer. Kättesaadav: doi:10.1007/978-3-319-40199-7.

Beaumont, J., & Montgomery, J. 2016. The Great Irish Famine: Identifying Starvation in the Tissues of Victims Using Stable Isotope Analysis of Bone and Incremental Dentine Collagen. *PLoS One*, 11(8). Kättesaadav: doi:10.1371/journal.pone.0160065.

Bol, R., & Pflieger, C. 2002. Stable isotope (¹³C, ¹⁵N and ³⁴S) analysis of the hair of modern humans and their domestic animals. *Rapid Communication in Mass Spectrometry*, 16(23), lk 2195–2200. Kättesaadav doi: <https://doi.org/10.1002/rcm.706>.

Chesson, L., Tipple, B., Howa, J., Bowen, G., Barnette, J., Cerling, T., & Ehleringer, J. 2014. Stable Isotopes in Forensics Applications. rmt: H. D. Holland, & K. K. Turekian, *Treatise on Geochemistry (Second Edition)* (Kd. 14, lk 285–317). Amsterdam ; San Diego, CA, USA: Elsevier. Kättesaadav: doi:<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-419968-2.00003-0>.

Chisholm, B. S., Erle Nelson, D., & Schwarcz, H. P. 1982. Stable-Carbon Isotope Ratios as a Measure of Marine versus Terrestrial Protein in Ancient Diets. *Science*, 216(4550), lk 1131–1132. Kättesaadav: doi:10.1126/science.216.4550.1131.

DeNiro, M. J. 1985. Postmortem preservation and alteration of in vivo bone collagen isotope ratios in relation to palaeodietary reconstruction. *Nature*, 317, lk 806–809. Kättesaadav: doi:<https://doi.org/10.1038/317806a0>.

DeNiro, M. J., & Epstein, S. 1978. Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 42(5), lk 495–506. Kättesaadav: doi:[https://doi.org/10.1016/0016-7037\(78\)90199-0](https://doi.org/10.1016/0016-7037(78)90199-0).

DeNiro, M. J., & Epstein, S. 1981. Influence of diet on the distribution of nitrogen isotopes in animals. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 45(3), lk 341–351. Kättesaadav: doi:[https://doi.org/10.1016/0016-7037\(81\)90244-1](https://doi.org/10.1016/0016-7037(81)90244-1).

Doi, H., Akamatsu, F., & González, A. L. 2017. Starvation effects on nitrogen and carbon stable isotopes of animals: an insight from meta-analysis of fasting experiments. *Royal Society Open Science*, 4(8). Kättesaadav: doi:<https://doi.org/10.1098/rsos.170633>.

Ehleringer, J. R., Bowen, G. J., Chesson, L. A., West, A. G., Podlesak, D. W., & Cerling, T. E. 2008. Hydrogen and oxygen isotope ratios in human hair are related to geography. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(88), lk 2788–2793. Kättesaadav: doi:<https://doi.org/10.1073/pnas.0712228105>.

Ellegård, L., Alstad, T., Rütting, T., Johansson, P. H., Lindqvist, H. M., & Winkvist, A. 2019. Distinguishing vegan-, vegetarian-, and omnivorous diets by hair isotopic analysis. *Clinical Nutrition*, 38(6), lk 2949–2951. Kättesaadav: doi:<https://doi.org/10.1016/j.clnu.2018.12.016>.

Eriksson, G., & Lidén, K. 2013. Dietary life histories in Stone Age Northern Europe. *Journal of Anthropological Archaeology*, 32(3), lk 288–302. Kättesaadav: doi:<https://doi.org/10.1016/j.jaa.2012.01.002>.

Europe, R. O. 2021. Plant-based diets and their impact on health, sustainability and the environment: a review of the evidence: WHO European Office for the Prevention and Control of Noncommunicable Diseases. World Health Organization. Kättesaadav: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/349086>

Forensics: Crime Scene Investigation 2017. Planet Isotopes. Kättesaadav: <https://planetisotopes.com/application/forensics/> (28.04.2022).

Haak, A., Tõrv, M., Tiidu, E., Rammo, R., & Malve, M. 2021. Näitus „Sinna, kus olen pärija. Muutuv matmiskombestik keskajast ärkamisajani“. Tartu Linnamuuseum. Tartu: Tartu Linnamuuseum.

Hogan, M. A., & Wane, D. 2002. Nutrition and Diet Therapy: Reviews & Rationales. Prentice Hall.

- Hülsemann, F., Koehler, K., Flenker, U., & Schänzer, W. 2017. Do we excrete what we eat? Analysis of stable nitrogen isotope ratios of human urinary urea. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 31(14), lk 1221–1227. Kättesaadav: doi:10.1002/rcm.7891.
- J.DeNiro, M., & SamuelEpstein. 1978. Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 42(5), lk 495–506. Kättesaadav: doi:https://doi.org/10.1016/0016-7037(78)90199-0.
- Klein, R. G. 2013. Stable carbon isotopes and human evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(6), lk 10470–10472. Kättesaadav: doi:https://doi.org/10.1073/pnas.1307308110.
- Koch, P. L., Fogel, M. L., & Tuross, N. 1994. Tracing the diets of fossil animals using stable isotopes. rmt: K. Lajtha, & R. Michene (Toim), *Stable isotopes in ecology and environmental science* (lk 63–92). Oxford: Blackwell Scientific Publications.
- Lagua, R. T., & Claudio, V. S. 2012. Nutrition and Diet Therapy Reference Dictionary (4 tr.). Dordrecht: Springer. Kättesaadav: doi:https://doi.org/10.1007/978-94-011-6878-6.
- Lõugas, L., Lidén, K., & Nelson, D. 1996. Resource utilisation along the Estonian coast during the Stone Age. *Coastal Estonia: Recent Advances in Environmental and Cultural History*, 51, lk 399–420.
- Macko, S., & Engel, M. H. 1991. Assessment of indigeneity in fossil organic matter: amino acids and stable isotopes. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 333(1268), lk 367–374. Kättesaadav: doi:https://doi.org/10.1098/rstb.1991.0086.
- Macko, S., Engel, M., Ancrusevich, V., Lubec, G., O'Connell, T., & Hedges, R. 1999. Documenting the diet in ancient human populations through stable isotope analysis of hair. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 354(1379), lk 65–76. Kättesaadav: doi:10.1098/rstb.1999.0360.
- McKinney, C., McCrea, J., Epstein, S., Allen, H., & Urey, H. 1950. Improvements in Mass Spectrometers for the Measurement of Small Differences. *Review of Scientific Instruments*, 21(724), lk 724–730. Kättesaadav: doi:10.1063/1.1745698.
- Mekota, A.-M., Grupe, G., Ufer, S., & Cuntz, U. 2006. Serial analysis of stable nitrogen and carbon isotopes in hair: monitoring starvation and recovery phases of patients suffering from anorexia nervosa. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, lk 1604–1610. Kättesaadav: doi:https://doi.org/10.1002/rcm.2477.

- Mekota, A.-M., Grupe, G., Ufer, S., & Cuntz, U. 2009. Identifying starvation episodes using stable isotopes in hair Forensic approach on serial hair analysis. *Rechtzmedizin*, 19(6), lk 431–440. Kättesaadav: doi:10.1007/s00194-009-0630-3.
- Mills, J., & White, R. 2003. *Organic Chemistry of Museum Objects* (2nd tr.). Oxford, UK: Butterworth-Heinemann.
- Minagawa, M. 1992. Reconstruction of human diet from $\sigma^{13}\text{C}$ and $\sigma^{15}\text{N}$ in contemporary Japanese hair: a stochastic method for estimating multi-source contribution by double isotopic tracers. *Applied Geochemistry*, 7, lk 145–158.
- Miyake, Y., & Wada, E. 1967. The abundance ratio of $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ in marine environments. *Records of oceanographic works in Japan*, 9, lk 37–53.
- Muccio, Z., & Jackson, G. 2009. Isotope Ratio Mass Spectrometry. *Analyst*, 134(2), lk 213–222. Kättesaadav: doi:10.1039/b808232d.
- Nakamura, K., Schoeller, D. A., Winkler, F. J., & Schmidt, H.-L. 1982. Geographical variations in the carbon isotope content of the diet and hair of contemporary man. *Biomedical Mass Spectrometry*, lk 390–394. Kättesaadav: doi:https://doi.org/10.1002/bms.1200090906.
- National Geographic Society 2020. Omnivores. Kättesaadav: <https://www.nationalgeographic.org/encyclopedia/omnivores/#:~:text=An%20omnivore%20is%20an%20organism%20that%20eats%20plants%20and%20animals,and%20nutrients%20for%20other%20organisms> (02.05.2022).
- Neuberger, F. M., Jopp, E., Graw, M., Püschel, K., & Grupe, G. 2013. Signs of malnutrition and starvation--reconstruction of nutritional life histories by serial isotopic analyses of hair. *Forensic Science International*, lk 22–32. Kättesaadav: doi:10.1016/j.forsciint.2012.10.037.
- O'Connell, T., & Hedges, R. 1999. Investigations into the effect of diet on modern human hair isotopic values. *American Journal of Physical Anthropology*, 108(4), lk 409–425. Kättesaadav: doi:10.1002/(SICI)1096-8644(199904)108:4<409::AID-AJPA3>3.0.CO;2-E.
- O'Connell, T., Hedges, R., Healey, M., & Simpson, A. 2001. Isotopic Comparison of Hair, Nail and Bone: Modern Analyses. *Journal of Archaeological Science*, 28(11), lk 1247–1255. Kättesaadav: doi:https://doi.org/10.1006/jasc.2001.0698.
- Oras, E., Anderson, J., Tõrv, M., Vahur, S., Rammo, R., Remmer, S., . . . Piombino-Mascalì, D. 2020. Multidisciplinary investigation of two Egyptian child mummies curated at the University of

Tartu Art Museum, Estonia (Late/Graeco-Roman Periods). *PLoS One*, 15(1), lk 1–27. Kättesaadav: doi:10.1371/journal.pone.0227446. PMID: 31945091.

Ostrom, P., & Fry, B. 1993. Sources and Cycling of Organic Matter within Modern and Prehistoric Food Webs. rmt: M. Engel, & S. Macko (Toim), *Organic Geochemistry. Topics in Geobiology*, vol 11. Boston: Springer. Kättesaadav: doi:https://doi.org/10.1007/978-1-4615-2890-6_37.

Pat Shanks III, W. 2014. Stable Isotope Geochemistry of Mineral Deposits. rmt: H. D. Holland, & K. K. Turekian (Toim), *Treatise on Geochemistry (Second edition)* (lk 59–85). Amsterdam ; San Diego: Elsevier.

Peterson, B. J., & Fry, B. 1987. Stable Isotopes in Ecosystem Studies. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 18, lk 293–320. Kättesaadav: doi:https://doi.org/10.1146/annurev.es.18.110187.001453.

Petzke, K. J., Boeing, H., & Metges, C. C. 2005. Choice of dietary protein of vegetarians and omnivores is reflected in their hair protein ¹³C and ¹⁵N abundance. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, lk 9. Kättesaadav: doi:10.1002/rcm.1925.

Petzke, K., Fuller, B. T., & Metges, C. C. 2010. Advances in natural stable isotope ratio analysis of human hair to determine nutritional and metabolic status. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, lk 9. Kättesaadav: doi:10.1097/MCO.0b013e32833c3c84.

Price, J. (i.a.). *Carbon isotopes*. Allikas: Pinterest: <https://pin.it/6gR97GE>.

Reference Materials Characterized for Stable Isotope Ratios. (i.a.). Kättesaadav: <https://nucleus.iaea.org/sites/ReferenceMaterials/Pages/Stable-Isotopes.aspx> (02.05.2022).

Saitoh, M., Uzuka, M., & Sakamoto, M. 1970. Human Hair Cycle. *Journal of Investigative Dermatology*, 54(1), lk 65–81.

Schellekens, R. C., Stellaard, F., Woerdenbag, H. J., Frijlink, H. W., & Kosterink, J. G. 2011. Applications of stable isotopes in clinical pharmacology. *British Journal of Clinical Pharmacology*, lk 879–897. Kättesaadav: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2125.2011.04071.x>.

Schoeller, D. 1999. Isotope Fractionation: Why Aren't We What We Eat? *Journal of Archaeological Science*, 26(6), lk 667–673. Kättesaadav: doi:https://doi.org/10.1006/jasc.1998.0391.

Schoeller, D., Minagawa, M., Slater, R., & Kaplan, I. 1986. Stable isotopes of carbon, nitrogen and hydrogen in the contemporary north American human food web. *Ecology of Food and Nutrition*, 18, lk 159–170. Kättesaadav: doi:https://doi.org/10.1080/03670244.1986.9990922.

- Schoeninger, M. J., & DeNiro, M. J. 1984. Nitrogen and carbon isotopic composition of bone collagen from marine and terrestrial animals. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 48(4), lk 625–639. Kättesaadav: doi:[https://doi.org/10.1016/0016-7037\(84\)90091-7](https://doi.org/10.1016/0016-7037(84)90091-7).
- Schoeninger, M. J., & Moore, K. 1992. Bone stable isotope studies in archaeology. *Journal of World Prehistory*, 6, lk 247–296. Kättesaadav: doi:<https://doi.org/10.1007/BF00975551>.
- Schoeninger, M. J., DeNiro, M. J., & Tauber, H. 1983. Stable Nitrogen Isotope Ratios of Bone Collagen Reflect Marine and Terrestrial Components of Prehistoric Human Diet. *Science*, 220(4604), lk 1381–1383. Kättesaadav: doi:10.1126/science.6344217.
- Sealy, J. 2001. Body tissue chemistry and palaeodiet. rmt: D. Brothwell, & A. Pollard (Toim), *Handbook of Archaeological Sciences*, lk 269–279.
- Sepp, H. 2020. *Kerged stabiilsed isotoobid ja mass-spektromeetria*. Tartu.
- Sharp, Z. 2017. *Principles of Stable Isotope Geochemistry* (2 tr.). University of New Mexico. Kättesaadav: doi:<https://doi.org/10.25844/h9q1-0p82>.
- Stable Isotopes*. (i.a.). Kättesaadav: <https://www.iaea.org/topics/nuclear-science/isotopes/stable-isotopes> (28.04.2022).
- Stenhouse, M. J., & Baxter, M. S. 1979. The Uptake of Bomb ¹⁴C in Humans. rmt: R. Berger, & H. E. Suess (Toim), *Radiocarbon Dating: Proceedings of the Ninth International Conference Los Angeles and La Jolla, 1976* (lk 324–341). Berkeley: University of California Press. Kättesaadav: doi:<https://doi.org/10.1525/9780520312876-033>.
- Sweeney, R., Liu, K., & Kaplan, I. 1978. Oceanic nitrogen isotopes and their uses in determining the source of sedimentary nitrogen. rmt: B. Robinson (Toim), *Stable isotopes in the earth sciences*. Lower Hutt: DSIR Science Information Division, lk 9–26.
- Tartu Linnamuuseum 2021. Näitus „Sinna, kus olen pärija. Muutuv matmiskombestik keskajast ärkamisajani“. Kättesaadav: <https://muuseum.tartu.ee/naitus-sinna-kus-olen-parija-muutuv-matmiskombestik-keskajast-arkamisajani/>.
- Thomson, J. J. 1913. LXXXIII. Rays of positive electricity. *Philosophical Magazine*, 86(106), lk 1–20. Kättesaadav: doi:10.1080/14786441008636962.
- Tieszen, L. L. 1991. Natural variations in the carbon isotope values of plants: Implications for archaeology, ecology, and paleoecology. *Journal of Archaeological Science*, 18(3), lk 227–248. Kättesaadav: doi:[https://doi.org/10.1016/0305-4403\(91\)90063-U](https://doi.org/10.1016/0305-4403(91)90063-U).

Tieszen, L., & Fagre, T. 1993. Effect of Diet Quality and Composition on the Isotopic Composition of Respiratory CO₂, Bone Collagen, Bioapatite, and Soft Tissues. rmt: J. G. Lambert (Toim), *Prehistoric Human Bone* (lk 121–155). Berlin, Heidelberg: Springer. Kättesaadav: doi:https://doi.org/10.1007/978-3-662-02894-0_5.

Tvauri, A., & Malve, M. 2017. Aruanne arheoloogilisest uuringust Tartu Vana-Jaani kalmistul Telleri perekonna hauakabelis 2017. aastal. Tartu: Tartu Ülikool.

Wang, C., Guo, L., Li, Y., & Wang, Z. 2012. Systematic Comparison of C₃ and C₄ Plants Based on Metabolic Network Analysis. *BMC Systems Biology*, 6(2). Kättesaadav: doi:10.1186/1752-0509-6-S2-S9.

What Are Stable Isotopes? (i.a.). Kättesaadav: <https://www.uwyo.edu/sif/stable-isotopes/what-are-stable-isotopes.html> (28.04.2022).

Vogel, J. C., & van der Merwe, N. J. 1977. Isotopic Evidence for Early Maize Cultivation in New York State. *American Antiquity*, 42(2), lk 238–242. Kättesaadav:doi:<https://doi.org/10.2307/278984>.

World Health Organization. (i.a.). Plant-based diets and their impact on health, sustainability and the environment: a review of the evidence: WHO European Office for the Prevention and Control of Noncommunicable Diseases. World Health Organization: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/349086> (02.05.2022).

Yoshinaga, J., Minagawa, M., Suzuki, T., Ohtsuka, R., Kawabe, T., Inaoka, T., & Akimichi, T. 1996. Stable carbon and nitrogen isotopic composition of diet and hair of Gidra-speaking Papuans. *American Journal of Biological Anthropology*, 100, lk 23–34. Kättesaadav: doi:[https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-8644\(199605\)100:1<23::AID-AJPA3>3.0.CO;2-E](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-8644(199605)100:1<23::AID-AJPA3>3.0.CO;2-E).

LISAD

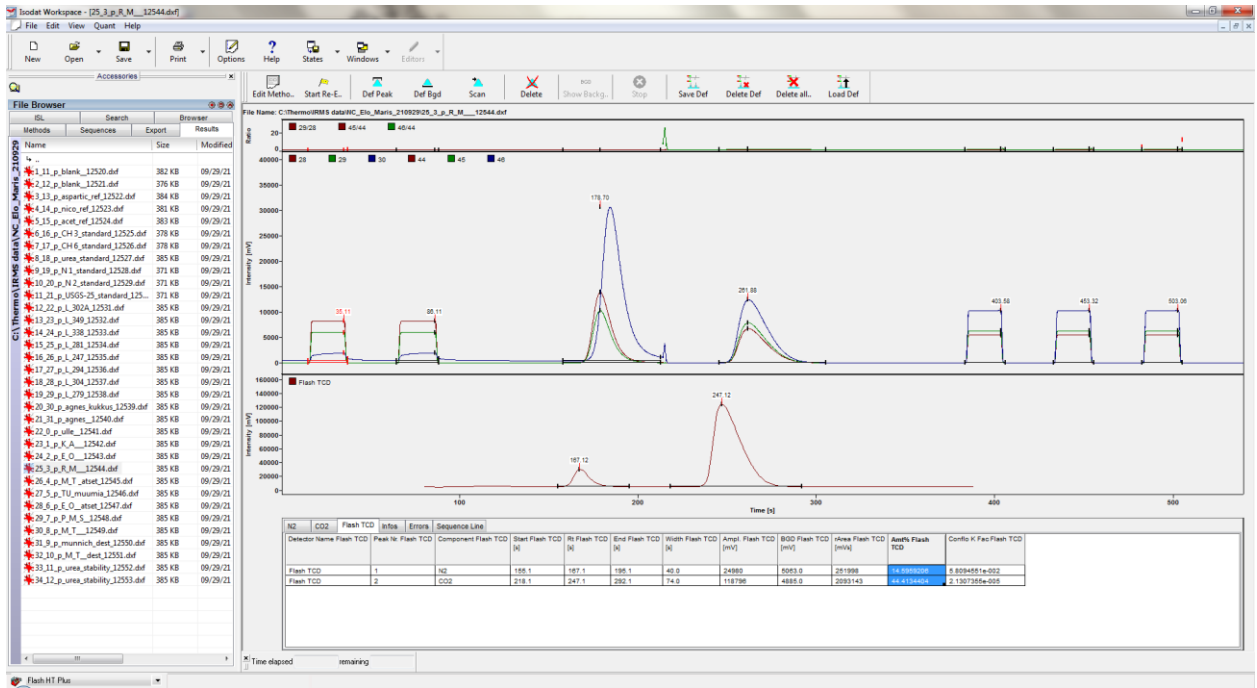
Lisa 1. Maetud proovi ettevalmistus



Lisa 2. Maetud proovi keskkond.



Lisa 3. M16 proovi Isodatis kuvatud tulemused.



Lisa 4. Töös analüüsitud proovid.

Proovi nimi	Proovi töötlus	Toitumine	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	Atm % N	Atm % C	C/N mass isuhe	Lisamärkmed	
N37	Ilma	Omnivoor	7,98	-	22,10	14,38	44,73	3,63	
N37	MilliQ	Omnivoor	8,02	-	21,89	14,58	45,07	3,61	
N37	Atsetoon	Omnivoor	8,15	-	22,03	14,41	43,63	3,53	
N37	MilliQ	Omnivoor	7,76	-	21,85	14,45	44,40	3,58	Proov kukkus
N37	MAETUD ilma	Omnivoor	7,92	-	21,72	14,44	42,71	3,45	MAETUD 14.06.– 19.08.21
N37	MAETUD MilliQ	Omnivoor	7,93	-	21,86	14,37	42,63	3,46	MAETUD 14.06.–19.08. 21
N37	MAETUD atsetoon	Omnivoor	7,95	-	21,80	14,63	43,29	3,45	MAETUD 14.06.– 19.08.21, proov kukkus
N46	Ilma	Omnivoor	8,68	-	22,48	14,12	44,60	3,68	
N46	MilliQ	Omnivoor	8,41	-	22,21	13,84	43,55	3,67	

N46	Ilma	Omnivoor	8,27	22,21	14,16	44,40	3,66	Lisa
N46	Ilma	Omnivoor	8,12	22,16	14,33	44,37	3,6	Lisa dublett
KESKMINE			8,20	22,19	14,25	44,39	3,64	
N46	Atsetoon	Omnivoor	7,97	22,60	14,42	45,96	3,72	Lisa
N46	Atsetoon	Omnivoor	8,01	22,63	14,42	45,85	3,71	Lisa dublett
KESKMINE			7,99	22,62	14,42	45,91	3,71	
N38	Ilma	Omnivoor	8,98	22,07	14,13	44,85	3,70	
N38	MilliQ	Omnivoor	8,96	21,80	14,25	44,89	3,68	
N38	Atsetoon	Omnivoor	9,07	21,84	14,62	44,01	3,51	
N38	Ilma	Omnivoor	8,89	21,62	14,60	44,41	3,55	
N47	Ilma	Vegetaarlane	8,36	21,98	14,28	43,11	3,52	
N45	Ilma	Vegan	6,13	22,93	14,34	44,30	3,60	

N18	Ilma	Vegan	6,50	22,63	14,03	45,13	3,75	
N18	Ilma	Vegan	6,53	22,67	12,85	41,43	3,76	Proov kukkus
N18	MilliQ	Vegan	6,37	22,18	14,28	45,31	3,70	
N18	Ilma	Vegan	6,00	22,40	14,21	45,12	3,70	Lisa
N18	Ilma	Vegan	6,03	22,44	14,18	45,40	3,73	Lisa dublett
KESKMINE			6,01	22,42	14,20	45,26	3,72	
N18.	Atsetoon	Vegan	6,04	22,58	14,16	45,72	3,77	Lisa
N18	Atsetoon	Vegan	6,05	22,58	14,30	46,22	3,77	Lisa dublett
KESKMINE			6,04	22,58	14,23	45,97	3,78	
N17	MilliQ	Muutus	7,96	21,45	14,65	45,05	3,59	0-5 cm
N17	MilliQ	Muutus	8,08	21,81	14,40	45,84	3,71	5-10 cm
N17	MilliQ	Muutus	8,28	21,58	16,46	51,61	3,66	10-15 cm

N17	MilliQ	Muutus	8,42	21,70	-	14,25	45,30	3,71	15-20 cm
N17	MilliQ	Muutus	8,25	21,50	-	14,17	45,36	3,74	20-30 cm
Anna von Igelström	MilliQ	?	12,69	20,24	-	14,36	42,80	3,48	Arheoloogiline
Telleri kabeli proud	MilliQ	?	10,65	20,96	-	14,50	42,50	3,42	Arheoloogiline
TÜ muumiapios	MilliQ	?	19,04	21,28	-	11,58	45,27	4,56	Arheoloogiline