

Tanden ontsloten

Ontwikkeling en toepassing van isotopenanalyses
voor onderzoek naar de herkomst van mensen



Esther Plomp

VRIJE UNIVERSITEIT

Unlocking teeth

Development and application of isotopic
methods for human provenance studies

ACADEMISCH PROEFSCHRIFT

ter verkrijging van de graad Doctor
aan de Vrije Universiteit Amsterdam,
op gezag van de rector magnificus
prof.dr. V. Subramaniam,
in het openbaar te verdedigen
ten overstaan van de promotiecommissie
van de Faculteit der Bètawetenschappen
op donderdag 3 september 2020 om 11.45 uur
in de aula van de universiteit,
De Boelelaan 1105

door

Esther Plomp-Peterson

geboren te Utrecht

promotor: prof.dr. G.R. Davies

copromotoren: dr. I.C.C. von Holstein
dr. L.M. Kootker
dr. J.M. Koornneef

**Zie <https://doi.org/10.5281/zenodo.3929551>
voor het volledige proefschrift (in het Engels), alle figuren en de referentielijst.**

Inhoudsopgave

Hoofdstuk 1	Introductie	6
Hoofdstuk 2	Isotopenanalyses	9
Hoofdstuk 3	Menselijke weefsels voor isotopenanalyses	34
Hoofdstuk 4	Neodymiumisotopen in menselijke tanden	16
Hoofdstuk 5	Evaluatie van de analyse van neodymiumisotopen in menselijke tanden	19
Hoofdstuk 6	Variatie in isotoopsystemen (strontium, zuurstof en koolstof) in modern menselijk tandglazuur	22
Hoofdstuk 7	Strontiumisotopen in modern menselijk tandglazuur en drinkwater in Nederland	28
Hoofdstuk 8	Discussie en conclusie	31

Nederlandse samenvatting

Tanden ontsloten

Ontwikkeling en toepassing van isotopenanalyses
voor onderzoek naar de herkomst van mensen



Hoofdstuk 1: Introductie

Dit onderzoek maakt onderdeel uit van een groot internationaal onderzoeksproject: NEXUS1492. Het NEXUS1492 project onderzoekt de impact van de interacties tussen Amerindianen, Europeanen en Afrikanen in de tijd van Columbus. Lang werd gedacht dat de inheemse samenlevingen vrij snel verdwenen nadat Columbus in 1492 de Caraïben 'ontdekte'. Met het NEXUS1492 project is de kant van het verhaal van de inheemse samenlevingen beter belicht door technieken van verschillende onderzoeksdisciplines te combineren om zo tot een betere reconstructie van het verleden te komen. Onderzoekers van drie universiteiten (Universiteit Leiden, Vrije Universiteit Amsterdam en Universiteit Konstanz) en verschillende onderzoeksvelden (archeologie, antropologie, bioarcheologie, genetica, fysische geografie, computerwetenschappen, bio- en geochemie en erfgoedstudies) kwamen bij elkaar en hebben het bedreigde erfgoed van de Caraïben beter in kaart gebracht. De Caraïbische archeologie wordt bedreigd door natuurrampen (klimaatverandering, stijgende zeespiegel, aardbevingen, vulkanen en orkanen), plundersaars die het erfgoed illegaal verhandelen en bouwprojecten. Om verdere vernietiging van het archeologisch bodemarchief te voorkomen moet het verleden van het Caraïbisch gebied op de erfgoedagenda worden geplaatst om zo het bewustzijn voor dit erfgoed te vergroten. NEXUS1492 heeft hieraan bijgedragen door de lokale Caraïbische experts en bevolking van de eilanden te betrekken bij het onderzoek en bij het opzetten van duurzaam erfgoedbeheer.

Isotopenanalyses van menselijke tanden

Dit onderzoek richt zich specifiek op de ontwikkeling en toepassing van biogeochemische methoden, ook wel isotopenanalyses genoemd. Isotopenanalyses van menselijke weefsels kunnen inzicht geven over drie aspecten van menselijk gedrag: (1) wat de persoon consumeerde; (2) mobiliteitspatronen; en (3) hoe oud de menselijke resten zijn. Isotopenanalyses zijn een uniek hulpmiddel voor het bestuderen van individueel menselijk gedrag. Archeologische interpretaties zijn vaak gebaseerd op analyses van de groep in plaats van het individu, omdat het archeologisch bodemarchief gefragmenteerd is. In forensische zaken kunnen isotopenanalyses bijdragen aan de identificatie van een lijk. De toepassing van forensische isotopenanalyses geeft bijvoorbeeld informatie over potentiële herkomstregio's, dieet, geboortjaar en tijdstip van overlijden, of diagnoses van overlijden door verdrinking. Ondanks het toenemende gebruik van isotopenanalyses in archeologisch en forensisch onderzoek zijn er nog wel onzekerheden en grenzen in de toepasbaarheid van deze technieken:

(1) Er is niet altijd (voldoende) materiaal beschikbaar voor isotopenonderzoek. Als materiaal niet bemonsterd kan worden, omdat het niet aanwezig is of beïnvloed is door diagenese (veranderingen in de fysische en/of chemische samenstelling van het materiaal) kunnen isotopenanalyses niet worden toegepast. Dit is met name een probleem in archeologisch onderzoek.

(2) De resolutie van isotopendata is vaak niet gedetailleerd genoeg. Er kan geen onderscheid gemaakt worden in diëten die op elkaar lijken of geografische omgevingen die vergelijkbaar zijn. Wat betreft dieet kan er vaak alleen een schatting gemaakt worden van het soort voedsel wat geconsumeerd is, zoals maritiem of verbouwd voedsel, plantaardige of dierlijke eiwitten. Tevens kan er onderscheid gemaakt worden tussen bepaalde planten. Zo heeft mais bijvoorbeeld een ander isotoopsignaal dan tarwe.

(3) Import van voedsel uit andere omgevingen kan een effect hebben op de isotopenwaarden van de mens: als dit voedsel uit een omgeving komt met een ander isotopensignaal kan het erop lijken dat de mens is verplaatst.

(4) Alhoewel isotopenanalyses een generiek beeld kunnen geven over wat mensen eten en waar zij vandaan komen, geven de analyses zelf geen informatie over welke sociaal-politieke factoren een rol spelen in de toegang tot eten of de redenen voor migratie.

(5) Om te bepalen of er een verandering in het dieet of in de locatie van mensen heeft plaatsgevonden is er data nodig over de isotopenwaarden van dit dieet en de omgeving. Zo zal er eerst een 'lokaal' signaal vastgesteld moeten worden. Daarna kan het isotoopsignaal van het menselijk weefsel hiermee worden vergeleken en dan kan er worden vastgesteld of iemand lokaal is of niet. Deze achtergronddata zijn niet altijd beschikbaar vanwege gebrekkige preservatie van archeologisch materiaal of beperkte (financiële) middelen. Daarnaast wordt niet altijd het meest geschikte materiaal gebruikt om dit lokale signaal te construeren. Zo heeft eerder onderzoek vaak de isotopenresultaten van de lokale geologie of planten gebruikt voor de reconstructie van het lokale signaal. Maar de isotopenwaarden van de lokale geologie en planten hoeven niet altijd direct gerelateerd te zijn aan die van mensen. Isotopen in menselijk weefsel worden namelijk niet direct opgenomen uit de grond. Ook is het de vraag hoe vergelijkbaar data van planten en mensen zijn als de geanalyseerde planten niet geconsumeerd werden door de mens.

(6) Op dit moment is de verwachte isotopenvariatie in menselijk weefsel nog niet goed in kaart gebracht. Zo is het onduidelijk of een verschil in isotopenwaarden het resultaat is van een verandering in dieet of locatie, of het wordt bepaald door een verschil in menselijk weefsel (als bot vergeleken wordt met een tand) of door biologische variatie (als er verschillende waarden aangetroffen worden in hetzelfde bot of tand). Het is daarom vaak onduidelijk hoeveel variatie

in de isotopenwaarden genoeg zou zijn om een verandering in dieet of locatie aan te kunnen tonen.

(7) De isotopendata die gegenereerd worden door verschillende laboratoria zijn niet altijd direct vergelijkbaar. Dit komt omdat er verschillen zijn in de uitvoering en toepassing van isotopentechnieken binnen deze laboratoria.

Om een aantal van deze genoemde beperkingen te adresseren is er in dit proefschrift gekeken naar de ontwikkeling van een nieuwe isotopentechniek (neodymium) om aanvullende informatie te verkrijgen over de geografische oorsprong van individuen. De toepassing van meerdere isotopentechnieken geeft meer informatie over het dieet of de locatie van een individu, omdat de informatie per isotoopsysteem verschilt. Zuurstofisotopen geven bijvoorbeeld een indicatie waar het water vandaan komt wat een individu drinkt. Strontiumisotopen zijn afhankelijk van de geologie in plaats van het drinkwater en geven daardoor een ander beeld, namelijk over waar het eten wat een individu consumeert vandaan komt. Een combinatie van de technieken geeft daarom een gedetailleerder beeld over de isotopen in menselijk weefsel en over de leefomgeving van een individu. In dit proefschrift is gekeken of neodymiumisotopen in tanden informatie toe kunnen voegen over de geografische locatie van mensen (zie **Hoofdstukken 4 en 5**).

Ook zijn bestaande isotopentechnieken (strontium, zuurstof, koolstof) nader onderzocht om de toepassingen hiervan te verbeteren. Zo is er bijvoorbeeld gekeken naar de variatie in de isotopenwaarden van mensen die niet van dieet of locatie zijn veranderd. Dit is gedaan door verschillende stukken tand te bemonsteren en zo te kijken of er een verschil zichtbaar is tussen de isotopenwaarden van deze monsters (zie **Hoofdstuk 6**). Ook is er gekeken naar het verband tussen de isotopenwaarden van kraanwater en van menselijke tanden (zie **Hoofdstuk 7**). Voor dit onderzoek zijn de verstandskiezen van mensen die geboren en getogen zijn in Nederland onderzocht.

Hoofdstuk 2: Isotopenanalyses

Isotopenanalyses worden sinds de jaren zeventig gebruikt om menselijke mobiliteit en dieet in archeologische samenlevingen te bestuderen. De toepassing van isotopenanalyses in forensische zaken begon later, namelijk rond 2000.

Isotoop, afgeleid van de Griekse woorden *isos* (zelfde) en *topos* (plaats), is een woord dat bedacht werd door Margaret Todd in 1912. Isotopen bestaan uit neutronen en protonen, de bouwstenen van atomen (de kleinste eenheden van een chemisch element). Isotopen hebben hetzelfde aantal protonen en behoren derhalve tot hetzelfde chemische element, maar kunnen een verschillend aantal neutronen in hun kern hebben. Strontium (Sr) isotopen ^{87}Sr en ^{86}Sr hebben bijvoorbeeld beide 38 protonen (en alle atomen met 38 protonen zijn altijd Sr-atomen), maar ^{87}Sr heeft 49 neutronen en ^{86}Sr heeft 48 neutronen. De atoommassa (de optelling van het totaal aantal protonen en neutronen) varieert dus aan de hand van het aantal neutronen.

Dit massaverschil resulteert in kleine variaties die leiden tot verschillende reactiesnelheden in chemische en biologische processen. Zwaardere isotopen reageren langzamer dan lichtere isotopen. Als de verhouding in isotopen verandert tijdens processen, wordt dit fractionering genoemd. Doordat lichtere isotopen, zoals zuurstof ($^{16,18}\text{O}$) en koolstof ($^{12,13}\text{C}$), sneller opgenomen kunnen worden tijdens biologische processen, zijn deze lichtere isotoopsystemen eerder onderhevig aan fractionering dan zwaardere isotopen. Zwaardere isotoopsystemen, zoals strontium ($^{86,87}\text{Sr}$) en neodymium ($^{143,144}\text{Nd}$), worden niet zo gemakkelijk gefractioneerd tijdens biologische processen. Zo is ^{13}C is bijvoorbeeld 7,7% zwaarder dan ^{12}C , terwijl ^{87}Sr slechts 1,2% zwaarder is dan ^{86}Sr en ^{144}Nd is slechts 0,7% zwaarder dan ^{143}Nd . Hoe groter het verschil in gewicht, hoe groter het effect van fractionering.

Isotopen kunnen stabiel zijn ($^{16,18}\text{O}$, $^{12,13}\text{C}$, ^{86}Sr , ^{144}Nd), radiogeen (^{87}Sr , ^{143}Nd) of radioactief (^{14}C , ^{90}Sr). De verhoudingen van stabiele isotopen veranderen niet in de loop van de tijd, terwijl radiogeen en radioactieve isotopen afnemen of vervallen gedurende voorspelbare perioden omdat de halveringstijd van de radioactieve isotopen bekend is.

Planten nemen de isotopensamenstelling op van de grond en het water van de omgeving waarin zij groeien en de koolstofdioxide (CO_2) uit de atmosfeer. De isotopenwaarden van planten wordt doorgegeven aan dieren via het dieet, drinkwater en de lucht die het dier inademt. De isotopen in het menselijk lichaam zijn afkomstig van het eten van deze planten

en dieren, drinkwater en de lucht die wordt ingeademd. Hierdoor worden de isotopen in de tanden van een persoon bepaald door de chemische samenstelling van de geografische en klimatologische omgeving waarin een persoon leeft. Hierdoor zeggen de isotopen in menselijk weefsel, zoals haar, bot, nagels en tanden (zie **Hoofdstuk 3**) wat over de woonplaats, migratie- en voedingspatronen van mensen.

De verschillende isotoopsystemen vertegenwoordigen verschillende aspecten van de omgeving waarin individuen leefden. De samenstelling van de zuurstofisotoop is voornamelijk afhankelijk van drinkwater. Hierdoor kunnen zuurstofisotopen gebruikt worden als herkomstindicator, omdat de zuurstofisotoopsamenstelling van drinkwater verandert naarmate een omgeving verder is verwijderd van de evenaar en/of zee en daarnaast afhankelijk is van de hoogteligging van een gebied. Strontiumisotopen geven ook informatie over de locatie van een individu, omdat de samenstelling van strontiumisotopen voornamelijk wordt bepaald door de geologie waarin het geconsumeerde voedsel werd verbouwd. Strontiumisotoopwaarden in kustgebieden worden echter beïnvloed door de isotopenwaarden van zeewater in plaats van de lokale geologie. Koolstofisotopen geven informatie over het type planten en dieren dat door een individu werd geconsumeerd en worden daarom hoofdzakelijk als dieetindicator gebruikt. De gecombineerde analyse van meerdere isotopensystemen levert daarom betrouwbaardere gegevens op, omdat elk isotoopsysteem verschillende aspecten van menselijk gedrag belicht. In dit proefschrift wordt daarom gekeken of een nieuw isotoopsysteem, neodymium, gebruikt zou kunnen worden als herkomstindicator om zo nieuwe informatie toe te voegen aan al bestaande isotooptechnieken (zie **Hoofdstukken 4 en 5**).

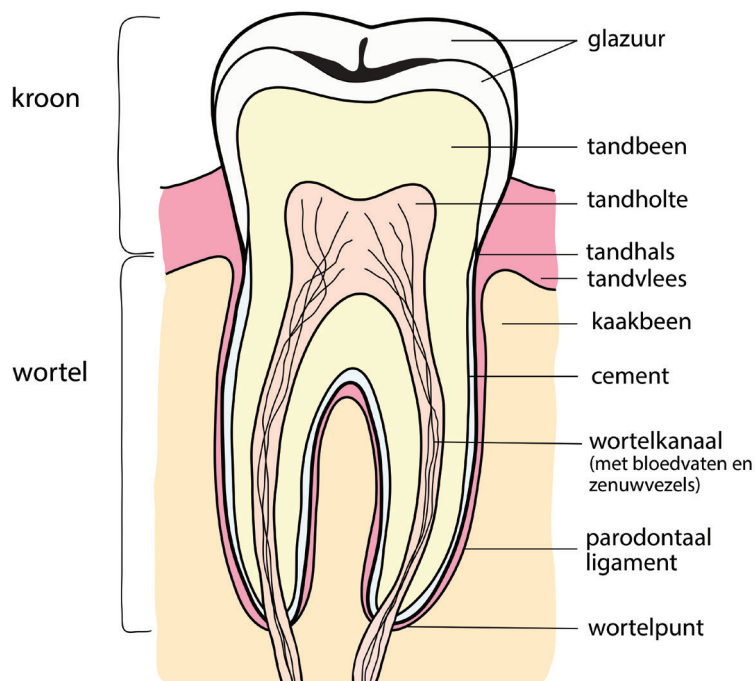
Ook zijn bestaande isotooptechnieken kritisch geëvalueerd, door te kijken naar de isotopenvariatie van strontium, zuurstof en koolstof in tandglazuur. Dit is onderzocht door meerdere monsters te nemen van het glazuur van dezelfde kies (zie **Hoofdstuk 6**). Zowel de toevoeging van informatie van nieuwe isotoopsystemen als de verbetering van de toepassing van bestaande isotopentechnieken zorgt ervoor dat de interpretaties die gebaseerd zijn op deze technieken verfijnd kunnen worden.

Hoofdstuk 3: Menselijke weefsels voor isotopenanalyses

Isotopenanalyses kunnen worden toegepast op menselijke weefsels om informatie te verkrijgen over de mobiliteit en het dieet van een persoon tijdens verschillende periodes in het leven van een individu. De analyse van tandglazuur geeft inzicht in de kindertijd, omdat de tanden groeien tijdens deze periode en vervolgens niet meer veranderen. Omdat bot zich constant vernieuwt, geven isotopenanalyses van bot informatie over een langere periode. De duur van deze periode verschilt per botelement: zo worden de ribben over een kortere periode vernieuwd dan de schedel of beenderen. Als de ribben geanalyseerd worden, geeft dit informatie over ongeveer de laatste 10 jaar van het leven van een individu, terwijl dit voor de schedel ongeveer 50 jaar is. Een isotopenanalyse van het haar geeft informatie over de laatste maanden of jaren van een individu afhankelijk van de lengte van het haar. Hoewel haar een belangrijk weefsel is in forensische zaken, blijft het helaas minder goed bewaard in het archeologische bodemarchief, omdat haar een zacht en poreus weefsel is. Daarom ligt de nadruk van dit proefschrift op het tandglazuur, de “diamant” van het menselijk lichaam. Tandglazuur is een menselijk weefsel wat goed bestand is tegen diagenese (fysieke of chemische aantasting), omdat glazuur het hardste menselijke weefsel is. Tandglazuur wordt daarom met name in de archeologie veel gebruikt voor isotopenanalyses.

Tanden kunnen geanalyseerd worden voor de isotopensamenstelling, maar worden ook voor andere doeleinden gebruikt binnen de biologische antropologie en forensische geneeskunde. Zo kunnen de vorm, volgorde en snelheid van de ontwikkeling van tanden inzicht geven over het geslacht van een individu, de leeftijd, gezondheid, dieet en afkomst.

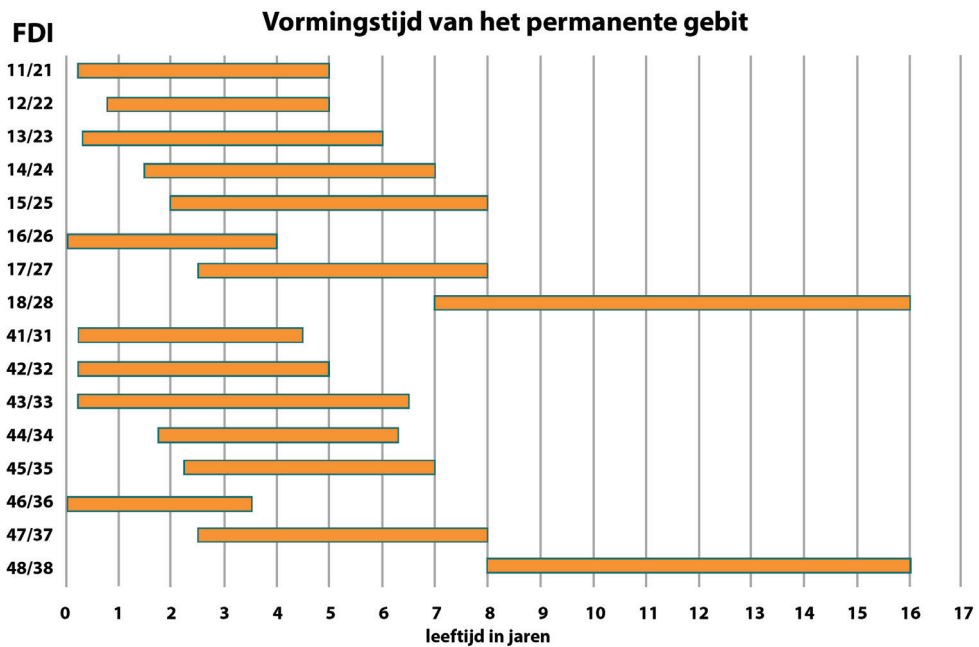
Mensen hebben twee gebitten (ook wel diphyodont genoemd). Het melkgebit wordt gevormd in de baarmoeder (vanaf ongeveer 14 weken) tot ongeveer een jaar na de geboorte. Dit melkgebit wordt tijdens de eerste levensjaren vervangen door het permanente gebit. Elke tand (voortanden en hoektanden) of kies (achterste tanden) bestaat uit een kroon en een wortel (zie **Figuur 3.2**). De buitenste laag van de kroon heet het tandglazuur, wat een zachtere binnenlaag bedekt dat dentine of tandbeen wordt genoemd. Omdat deze laag glazuur niet verandert nadat het gevormd is, blijft de isotopensamenstelling van de kinderjaren bewaard. Gezien verschillende tanden over andere jaren ontwikkelen (zie **Tabel 3.2**, en **Figuren 3.3** en **3.4**) is het mogelijk om meerdere tanden te analyseren van één individu om zo een beeld te krijgen over bepaalde periodes in de kindertijd.



Figuur 3.2
Schematische
tekening van
een kies.

Tabel 3.2 Het begin en de voltooiing van de vorming van het glazuur (in jaren) aangegeven per tand. Het type tand wordt aangegeven in nummers van het FDI World Dental Federation notatie systeem (ISO 3950). De informatie die wordt weergegeven in deze tabel is afkomstig van eerdere studies (AlQahtani et al. 2010; ElNesr & Avery 2002; Gustafson & Koch 1974; Massler et al. 1941; Moorrees et al. 1963; Nanci 2012; Reid & Dean 2006; Schour & Massler 1941; Smith 1991; White et al. 2011).

Tand	FDI Rechts	FDI Links	Begin	Voltooiing
Centrale snijtand	11	21	0.25	5
Laterale snijtand	12	22	0.8	5
Hoektand	13	23	0.3	6
Eerste kleine kies	14	24	1.5	7
Tweede kleine kies	15	25	2	8
Eerste grote kies	16	26	0	4
Tweede grote kies	17	27	2.5	8
Verstandskies	18	28	7	16
Centrale snijtand	41	31	0.25	4.5
Laterale snijtand	42	32	0.25	5
Hoektand	43	33	0.25	6.5
Eerste kleine kies	44	34	1.75	6.3
Tweede kleine kies	45	35	2.25	7
Eerste grote kies	46	36	0	3.5
Tweede grote kies	47	37	2.5	8
Verstandskies	48	38	8	16



Figuur 3.3 Tijd (in jaren) voor de vorming van het glazuur van tanden, gebaseerd op informatie van eerdere studies (AlQahtani et al.2010; ElNesr & Avery 2002; Gustafson & Koch 1974; Massler et al. 1941; Moorrees et al. 1963; Nanci 2012; Reid & Dean 2006; Schour & Massler 1941; Smith 1991; White et al.2011). Over het algemeen ontwikkelen de tanden van het permanente gebit zich eerder in de onderkaak dan de tanden in de bovenkaak.

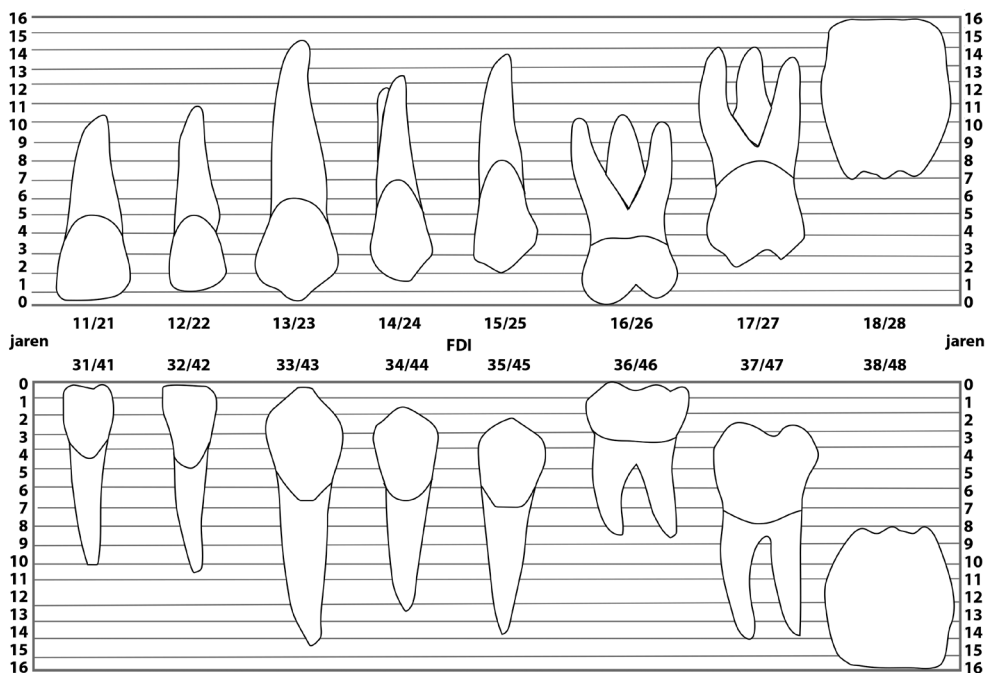
De analyses van dit proefschrift zijn gedaan op verstandskiezen, gedoneerd door mensen na extractie tussen de jaren 2011-2016. Deze verstandskiezen zijn geschikt voor isotopenanalyses omdat zij preventief getrokken kunnen worden, waardoor de kies vaak nog gezond is (in tegenstelling tot andere getrokken tanden). Verstandskiezen zijn anders dan andere tanden en kiezen van het gebit, omdat er veel variatie zit in de grootte, ontwikkeling en het voorkomen van de tanden. Zo ontwikkelen verstandskiezen zich niet altijd of zijn ze misvormd. De verstandskiezen in de bovenkaak worden meestal eerder gevormd dan de verstandskiezen in de onderkaak. Er lijkt geen verschil te zijn tussen de linker- en rechterkant van het gebit in de ontwikkeling van verstandskiezen. Wel vindt de ontwikkeling van verstandskiezen eerder plaats bij jongens dan bij meisjes (in tegenstelling tot de ontwikkeling van de rest van het gebit).

De vorming van tandglazuur is een complex proces wat bestaat uit verschillende fases. In de eerste fase vindt de eerste vorming van het glazuur plaats binnen in de tand, bovenop de laag tandbeen. Vervolgens breidt het glazuur zich uit in lagen die zich langzaam opstapelen in een patroon. Dit patroon zorgt ervoor dat het glazuur later resistent is voor de druk die het ondergaat tijdens het kauwen. De aanleg van de lagen glazuur vindt plaats in een regelmatige tijdsperiode, waardoor deze lagen gebruikt kunnen worden om naar de tijdsduur van glazuurvorming te kijken en naar de leeftijd van de eigenaar van de tand. Het glazuur verhardt zich pas tijdens de laatste fase van het vormingsproces. Aan het einde van dit verhardingsproces, ook wel mineralisering genoemd, wordt er geen nieuw glazuur meer aangemaakt.

Tijdens de vorming van glazuur kunnen er defecten ontstaan door verstoring in de groei of door tekorten in het dieet. Ook kan na de vorming het glazuur aangetast worden door de vorming van gaatjes of cariës. Cariës zorgen voor de geleidelijke demineralisatie van het glazuur. Dit proces wordt vooral veroorzaakt door de zuren die worden gevormd tijdens de fermentatie van koolhydraten, voornamelijk suikers, door de bacteriën in de mond. Het proces van demineralisatie kan gestopt worden en soms treedt er ook re-mineralisatie op. Of cariës verder ontwikkelen, hangt af van vele factoren en het effect wat cariës hebben op de isotoopsamenstelling van glazuur is momenteel nog niet goed onderzocht (zie **Hoofdstuk 6**).

Omdat de vorming van tandglazuur een ingewikkeld proces is, is het momenteel niet duidelijk hoe isotopen in glazuur worden geïncorporeerd. Worden de isotopen op dezelfde manier opgenomen als de opbouw van het glazuur zelf, waarbij er onderscheid gemaakt kan worden tussen verschillende lagen? Is er een discrepantie in de opbouw van het glazuur en de incorporatie van de isotopen, waardoor de glazuurlagen en de isotopenwaarden verschillende tijdsperiodes representeren? Of worden de isotopen pas helemaal aan het einde, tijdens het mineralisatieproces, vastgelegd in het glazuur? Omdat dit momenteel nog niet goed wetenschappelijk onderzocht is, weten we niet exact welke tijdsperiode de monsters voor isotopenanalyses representeren en of het mogelijk is om informatie over meerdere tijdsperiodes te verkrijgen vanuit één tand. Als de isotopen voornamelijk tijdens het mineralisatieproces vastgelegd worden in het glazuur - iets waar de meeste onderzoekers momenteel vanuit gaan - zou de gehele glazuurlaag ongeveer dezelfde isotopenwaarden moeten hebben. Daarom richten de meeste isotopenstudies zich op het bemonsteren van één locatie van de tand. De resultaten van deze bemonsteringslocaties worden gezien als representatief voor de gehele tijdsperiode waarin de tand zich heeft gevormd. **Hoofdstuk 6** onderzoekt of dit daadwerkelijk

het geval is, maar eerst wordt de gehele glazuurlaag geanalyseerd voor neodymiumisotopen in **Hoofdstukken 4 en 5**.



Figuur 3.4 Schematische weergave van de vormingstijd (in jaren) van het glazuur van het permanente gebit. Het FDI-notatie systeem wordt gebruikt om de afzonderlijke tanden aan te geven (linker- en rechtertanden gecombineerd, zie ook **Tabel 3.2**). De visuele weergave is gebaseerd op een figuur van Massler et al. (1941). De vorming van het glazuur van de eerste grote kiezen (16, 26, 36, 46) is relatief kort (3 à 4 jaar) ten opzichte van de vorming van het glazuur van de verstandskiezen (18, 28, 38, 48) wat 7 à 8 jaar kan duren.

Hoofdstuk 4: Neodymiumisotopen in menselijke tanden

De analyse van een nieuw isotopensysteem, neodymiumisotopen ($^{143}\text{Nd}/^{144}\text{Nd}$), zou nieuwe informatie kunnen geven over de mobiliteit van mensen in archeologische en forensische studies. Neodymium zou hiervoor een geschikt isotopensysteem kunnen zijn, omdat neodymiumisotopen zich conservatief gedragen of onveranderd blijven in chemische en biologische processen dankzij de zware massa van deze isotopen. Hierdoor geven neodymiumisotopen een betere weerspiegeling van de geologische ondergrond dan strontiumisotopen. Dit is met name een voordeel in kustgebieden - zoals grote delen van het Caraïbisch gebied - waar strontiumisotopen beïnvloed worden door de strontiumwaarden van de oceaan.

De analyse van neodymiumisotopen werd nog niet toegepast op menselijke weefsels, omdat de concentratie van neodymiumisotopen in het menselijk lichaam heel laag is. Dit is vanwege de lage neodymiumisotopenconcentratie in het dieet van de mens. Planten nemen neodymiumisotopen uit de grond slecht op, waardoor de hoeveelheid neodymiumisotopen in de voedselketen laag blijft. Naast opname via het dieet kunnen neodymiumisotopen ook ingeademd worden of via de huid het lichaam binnentreden. Zo werden verhoogde concentraties aangetroffen in menselijk weefsel van mensen die in contact waren geweest met neodymium zoals mijnwerkers. Neodymium vervult geen functie in het menselijk lichaam en kan in grote hoeveelheden zelfs giftig zijn, waardoor het slecht wordt opgenomen. De kleine hoeveelheden neodymiumisotopen in menselijke weefsels bemoeilijkt de analyse, waardoor er nog weinig bekend is over hoe neodymiumisotopen zich gedragen in het biologische systeem van de mens. Dit proefschrift is het eerste werk wat naar de neodymiumisotopenratio's ($^{143}\text{Nd}/^{144}\text{Nd}$) van meerdere individuen heeft gekeken.

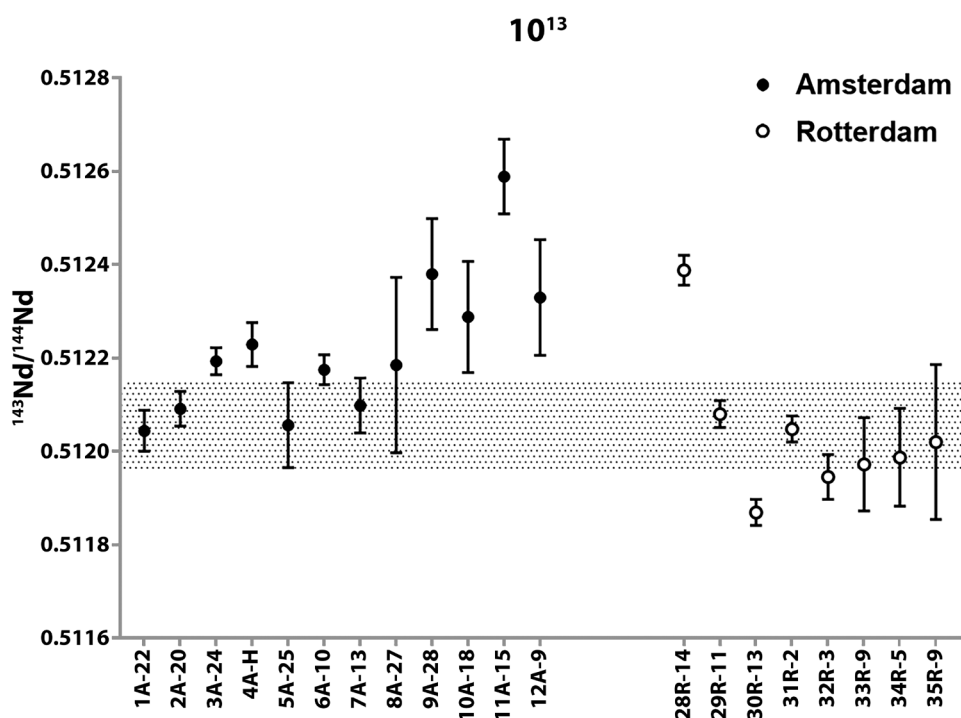
Voor de isotopenanalyse van strontium, zuurstof en koolstof is het gebruikelijk om een klein beetje glazuur van de tand te bemonsteren met behulp van een micro Dremel boor. Voor de analyse van neodymiumisotopen is echter de gehele laag glazuur van de tand nodig, omdat er anders niet genoeg neodymium beschikbaar is voor de meting. Om deze grote hoeveelheid glazuur te verwerken (voordat het klaar is voor de analyse) moesten bestaande labprocedures voor neodymiumisotopenextractie worden aangepast.

Voor zowel strontium- als neodymiumisotopenanalyse moeten de isotopen uit het bemonsterde glazuur geïsoleerd worden. Dit gebeurt door een kolomprocedure in het lab.

Daarvoor moet het bemonsterde glazuur opgelost worden in zuur, waarna het vloeibare monster op een kolom wordt overgebracht. Met behulp van deze kolomprocedure worden de chemische elementen van elkaar gescheiden. Alleen het neodymium (of strontium) wordt opgevangen aan het einde van de kolomprocedure. Door het scheiden van de elementen kan de geselecteerde isotoop geanalyseerd worden zonder interferenties van andere elementen die zich in het glazuur bevinden. Vervolgens kunnen strontium- en neodymiumisotopen gemeten worden met behulp van een massaspectrometer. Voor de monsters in dit proefschrift is een 'thermal ionisation mass spectrometer' (TIMS) gebruikt, een Thermo Scientific Triton *Plus* TIMS. Met behulp van dit instrument wordt het monster opgewarmd, waardoor de neodymium- of strontiumisotopen in het instrument terecht komen en met behulp van magneten door het apparaat worden getrokken. Aan het einde van het apparaat bevinden zich bekken die de isotopen opvangen en bijhouden hoeveel isotopen zij opvangen. Deze aantallen worden vervolgens gecommuniceerd naar de computer waarmee het instrument bediend wordt, waardoor de hoeveelheid en de verhouding van de strontium- of neodymiumisotopen berekend kan worden. Deze verhouding, of de ratio, is de isotopenwaarde van het geanalyseerde monster. Omdat er zulke lage concentraties neodymiumisotopen in de tandmonsters zaten, moest er gebruik worden gemaakt van speciale versterkers ($10^{13} \Omega$) voor de TIMS.

Uit de resultaten bleek dat de hoeveelheid neodymiumisotopen in de verstandskiezen erg verschillend was. Hierdoor kon een gedeelte van de monsters niet geanalyseerd worden, omdat er zich onvoldoende neodymiumisotopen in de tand bevonden voor de meting. Hoeveel neodymiumisotopen er aanwezig zijn in de verstandskiezen wordt mogelijk veroorzaakt door biologische processen in het lichaam van de mens, wat voor variabele neodymiumisotopenconcentraties zorgt. Uit de gemeten monsters bleek dat ongeveer 60% van de neodymiumwaarden van verstandskiezen overeenkwamen met de geologie waar de donoren waren opgegroeid (gebaseerd op data van vorig onderzoek). De verstandskiezen van inwoners uit Rotterdam en Amsterdam werden geanalyseerd en bleken onderling verschillend in hun neodymiumwaarden. Over het algemeen kwamen de waarden van individuen van Rotterdam beter overeen met de verwachte neodymiumwaarden van de omgeving (**Figuur 4.5**). Een mogelijke verklaring hiervoor is dat het geologische achtergrondsignaal gebaseerd is op een klein aantal monsters (18 in totaal) afkomstig uit de buurt van Rotterdam. De reden voor het verschil tussen de inwoners van Rotterdam en Amsterdam is lastig te bepalen met de beperkt beschikbare data. Daarnaast hadden een paar individuen afwijkende neodymiumwaarden die niet overeenkwamen met de geologie van Nederland, maar eerder met de geologie van vulkanische gebieden zoals IJsland en Italië. Deze afwijkende waarden kunnen veroorzaakt

worden door meerdere factoren. Zo is het mogelijk dat neodymiumisotopen gefractioneerd worden tijdens de opname in het menselijk lichaam, alhoewel dit onwaarschijnlijk is vanwege de zware massa van neodymiumisotopen. Daarnaast kan het neodymiumisotopensignaal beïnvloed worden als het dieet een niet-Nederlandse isotoopsamenstelling heeft door bijvoorbeeld geïmporteerd eten. Het is lastig vast te stellen hoeveel invloed dit heeft op neodymiumisotopen in tanden vanwege de gelimiteerde hoeveelheid data, maar voor andere isotoopsystemen als zuurstof, koolstof en strontium bleek dat de waarden nog steeds gebonden waren aan de lokale omgeving ondanks de globalisering van de Nederlandse voedselmarkt. Neodymiumisotopen in verstandskiezen kunnen ook nog beïnvloed worden door niet-geologische bronnen, zoals bijvoorbeeld industriële emissie die wordt ingeademd. Dit laatste leek onwaarschijnlijk, alhoewel lokale blootstelling niet kon worden uitgesloten. Het blijft mogelijk dat andere bronnen van neodymium een grote invloed hebben op de neodymiumwaarden in verstandskiezen, maar om hier een beter beeld van te vormen is verder onderzoek nodig (zie **Hoofdstuk 5**).



Figuur 4.5 Verstandskiezen geanalyseerd met speciale versterkers ($10^{13} \Omega$) van inwoners uit Amsterdam ($n = 12$) en Rotterdam ($n=8$). Het grijsgekleurde vlak ($^{143}\text{Nd}/^{144}\text{Nd} = 0.511983\text{-}0.512166$) zijn de verwachte neodymiumisotopenwaarden, gebaseerd op waarden van Rijn sedimenten.

Hoofdstuk 5: Evaluatie van de analyse van neodymiumisotopen in menselijke tanden

Om te kijken of de analyse van neodymiumisotopen ($^{143}\text{Nd}/^{144}\text{Nd}$) in menselijke tanden kan worden toegepast om mobiliteit van mensen te bepalen, zijn voor dit hoofdstuk meer tanden geanalyseerd met behulp van de methoden en technieken die beschreven zijn in **Hoofdstuk 4**. Aan de bestaande data zijn nieuwe Nederlandse resultaten toevoegt van individuen die geboren en getogen zijn in Limburg en Friesland (**Figuur 5.1**). De bestaande dataset is hiermee verdubbeld. Het is belangrijk om te bepalen of de neodymiumisotopenwaarden ook overeenkomen met een geologische achtergrond buiten Nederland. Hiervoor zijn de verstandskiezen van vijf individuen uit IJsland, Colombia en het Caraïbisch gebied (Bonaire, Curaçao) geanalyseerd (**Figuur 5.2**). In totaal zijn de neodymiumisotopenwaarden van 40 individuen geanalyseerd.

De neodymiumisotopendata uit dit hoofdstuk komen overeen met eerder gegenereerde data: de concentratie neodymiumisotopen in de tanden was laag en het is onwaarschijnlijk dat deze lage concentraties beïnvloed zijn door bijvoorbeeld luchtvervuiling. Neodymiumisotopen in stof in de lucht zorgen namelijk voor veel hogere concentraties van neodymiumisotopen in menselijk weefsel dan aangetoond in dit onderzoek. Het lijkt echter onwaarschijnlijk dat neodymium volledig door de geologie wordt bepaald, wat bijvoorbeeld wel het geval is voor strontiumisotopen. De neodymiumisotopenwaarden van menselijke tanden kunnen onder andere worden beïnvloed door fossiele brandstof, mest, verbranding van afval, metallurgische verwerkingsprocessen (zoals de productie van magneten) of contact met magneten in smartphones, computers en andere elektrische apparatuur. De invloed van roken op de $^{143}\text{Nd}/^{144}\text{Nd}$ ratio's kon wel worden uitgesloten, omdat twee individuen rookten tijdens de vorming van hun verstandskiezen. Ondanks het roken hadden zij nog steeds lage neodymiumisotopenconcentraties in hun tanden. De $^{143}\text{Nd}/^{144}\text{Nd}$ ratio's worden waarschijnlijk ook niet beïnvloed door het dieet: In **Hoofdstuk 4** was de eigenaar van de hoogste waarde een vegetariër, maar nu hadden twee andere vegetariërs gemiddelde waarden.

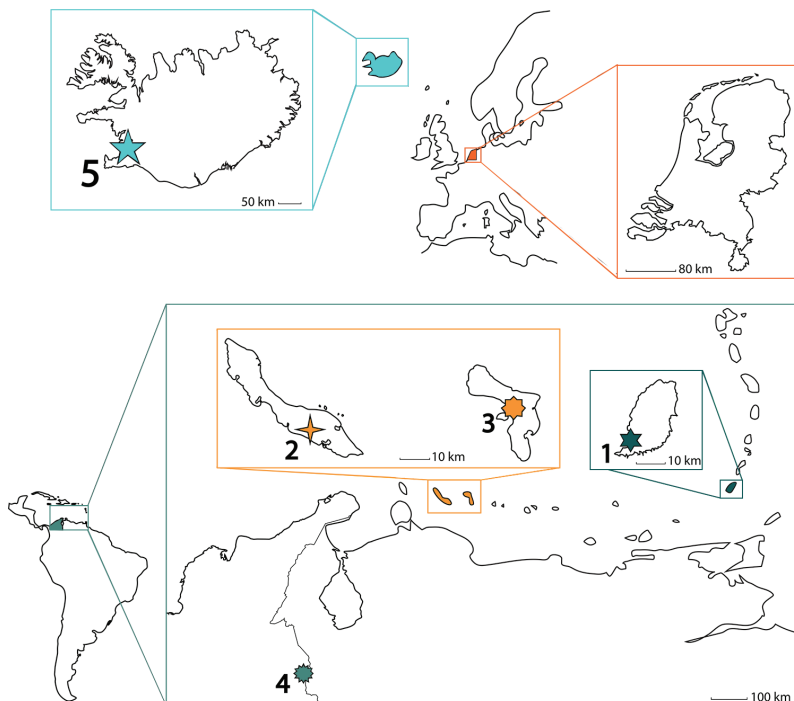
De meerderheid van de individuen (83%) heeft neodymium- en strontiumisotopenwaarden die overeenkomen met de geologische omgeving waar zij zich in bevonden tijdens de vorming van hun verstandskiezen. Dit is een indicatie dat de analyse van neodymiumisotopen gebruikt zou kunnen worden als herkomstindicator. In vijf individuen (vier Nederlanders en één IJslander) weken deze waarden af van die van de geologie. Deze afwijkende $^{143}\text{Nd}/^{144}\text{Nd}$ ratio's zouden

Figuur 5.1 Een topografische kaart van Nederland met plaatsen waar de individuen woonden tijdens de vorming en mineralisatie van hun verstandskiezen.

1 = Warmenhuizen, 2 = Alkmaar, 3 = Purmerend, 4 = Zaandam, 5 = Amsterdam, 6 = Maarssen, 7 = Utrecht, 8 = Rotterdam, 9 = Dordrecht, 10 = Kortgene, 11 = Holwerd, 12 = Leeuwarden, 13 = Oldeboorn, 14 = Lippenhuizen, 15 = Enschede, 16 = Den Bosch, 17 = Maastricht, 18 = Heerlen, 19 = Vaals.



Figuur 5.2 Een kaart van Europa en het Caraïbisch gebied met de locaties waar de individuen woonden tijdens de mineralisatie van hun verstandskiezen. 1 = St. George's (Grenada), 2 = Willemstad (Curaçao), 3 = Kralendijk (Bonaire), 4 = Cúcuta (Colombia), 5 = Reykjavik (IJsland).



veroorzaakt kunnen worden door invloed van de mens op neodymiumisotopen zoals mest, fijnstof of elektronica en import van voedsel. Zowel in Nederland als in IJsland wordt veel eten geïmporteerd uit gebieden met $^{143}\text{Nd}/^{144}\text{Nd}$ ratio's die overeenkomen met de waarden van de geanalyseerde individuen. Dit verklaart echter niet waarom de strontiumisotopendata van alle Nederlandse individuen wel overeenkomen met de verwachte strontiumisotopenwaarden voor Nederland. Mogelijk worden strontium- en neodymiumisotopenwaarden in menselijke tanden beïnvloed door verschillende factoren. De strontiumwaarden van het IJslandse individu weken ook af van de verwachte waarden van de IJslandse geologie. Deze afwijking is waarschijnlijk het gevolg van de invloed van de strontiumisotopenwaarden van de zee. Een andere oorzaak voor de afwijkende isotopenwaarden van dit individu kan het dieet zijn. Zo is het mogelijk dat het individu uit IJsland veel vis uit de diepzee heeft gegeten, waar de $^{143}\text{Nd}/^{144}\text{Nd}$ ratio's lager zijn die van de IJslandse geologie. Helaas is er geen gedetailleerde informatie beschikbaar over het dieet van dit individu en blijft dit slechts een interpretatie.

Industriële vervuiling en het gebruik van kunstmest kan invloed kan hebben op de neodymiumisotopen in menselijk weefsel. Deze invloed is waarschijnlijk beperkt in archeologische populaties, omdat er toen weinig tot geen sprake was van lange-afstandshandel, grootschalige industrialisering of het gebruik van magneten en elektronica. Voordat neodymiumisotopenanalyses toegepast kunnen worden op archeologisch materiaal moet er eerst worden vastgesteld of neodymiumisotopen in het glazuur niet worden beïnvloed door diagenese (fysieke of chemische veranderingen). Als de buitenste laag van het glazuur verwijderd moet worden om er zeker van te zijn dat de resterende laag glazuur onaangetast is gebleven, kan het namelijk zijn dat er te weinig glazuur overblijft voor de analyse van neodymiumisotopen.

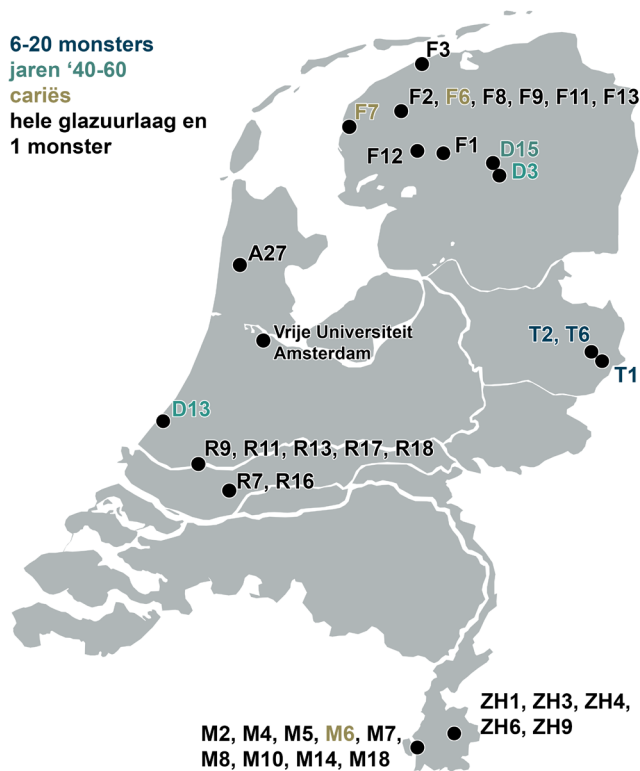
De analyse van neodymiumisotopen in menselijke weefsels wordt momenteel beperkt doordat de gehele laag glazuur nodig is en daarnaast meetapparatuur nodig is die gebruikt maakt van de nieuwste technieken ($10^{13} \Omega$ versterkers). Omdat het op dit moment nog niet zeker is of de neodymiumisotopenwaarden volledig door de geologie worden bepaald, is het nu nog niet mogelijk om neodymiumisotopen routinematig toe te passen voor de analyse van het glazuur van menselijke tanden. Hiervoor is verder onderzoek nodig naar de $^{143}\text{Nd}/^{144}\text{Nd}$ ratio's van andere geografische regio's. Ook is er meer achtergronddata nodig over de herkomst van het dieet en eventuele andere neodymiumisotopenbronnen zoals elektronische apparatuur, magneten, meststoffen en luchtvervuiling. In de toekomst zal de analyse van neodymiumisotopen waarschijnlijk makkelijker worden door technische verbeteringen.

Hoofdstuk 6: Variatie in isotoopsystemen (strontium, zuurstof en koolstof) in modern menselijk tandglazuur

De vorming van tandglazuur is een ingewikkeld proces (zie **Hoofdstuk 3**) waardoor niet zeker is wanneer isotoopsystemen worden opgenomen in het glazuur. De meeste onderzoekers gaan er nu vanuit dat de gehele glazuurlaag ongeveer dezelfde isotopenwaarden heeft. Om deze hypothese te testen, beschrijft dit hoofdstuk de resultaten van meerdere bemonsteringslocaties van het glazuur van dezelfde verstandskies (6 tot 20 monsters) en zijn deze resultaten vergeleken met de resultaten van zes bemonsteringslocaties van een andere verstandskies van hetzelfde individu. Ook zijn de resultaten van de gehele glazuurlaag van de verstandskies vergeleken met één bemonsteringslocatie van deze laag. Hiervoor werden verstandskiezen geanalyseerd van 47 personen uit Nederland (zie **Figuur 6.1**), het Caraïbisch gebied, Colombia, Amerika, Somalië en Zuid-Afrika. Er zijn drie isotoopsystemen geanalyseerd: strontium, zuurstof en koolstof. Daarbij is alleen voor strontiumisotopen ook de aanwezige concentratie gemeten.

Voor isotopenanalyses wordt het glazuur bemonsterd met behulp van een handboor (micro Dremel). Eerst wordt de buitenste oppervlaktelaag vóór bemonstering verwijderd om contaminatie van het monster te voorkomen. Vaak wordt er in isotopenstudies niet duidelijk beschreven waar het monster exact genomen is en momenteel bestaan hier geen formele richtlijnen voor. Doorgaans worden de tandoppervlaktes in contact met andere tanden of gebieden aangetast door gaatjes (cariës) of defecten (zie **Hoofdstuk 3**) vermeden. Hierdoor is er momenteel geen data beschikbaar over het effect van gaatjes of defecten op de isotopenwaarden in het glazuur. Om dit effect te onderzoeken zijn er in dit hoofdstuk ook verstandskiezen met gaatjes geanalyseerd, waarbij zowel de gaatjes als het gezonde glazuur is bemonsterd.

Omdat er geen formele bemonsteringsrichtlijnen bestaan, is het onduidelijk in hoeverre de isotopenresultaten van verschillende bemonsteringstechnieken vergelijkbaar zijn. Omdat er nu vaak maar één locatie wordt bemonsterd, is het ook niet duidelijk hoeveel onderlinge variatie er tussen de isotopenanalyses van verschillende bemonsteringslocaties van één tand zou zijn. Kortom, de verwachte spreiding in isotopenwaarden (of de isotopenvariatie) in tanden is momenteel onbekend en wordt voor moderne Nederlanders in dit hoofdstuk beschreven.



Figuur 6.1 Een kaart van Nederland met de plaatsen waarin de geanalyseerde individuen ($n = 38$) woonden tijdens de vorming van hun verstandskiezen.

F3 = Holwerd

F2, F6, F8, F9, F11, F13 =

Leeuwarden

7 = Wijnaldum

F12 = Oldeboorn

F1 = Lippenhuizen

D15 = Veenhuizen

D3 = Smilde

A27 = Alkmaar

T2, T6 = Hengelo

T1 = Enschede

D13 = Den Haag

R9, R11, R13, R17, R18 =

Rotterdam

R7 = Dordrecht

ZH1, ZH3, ZH4, ZH6, ZH9 =

Heerlen

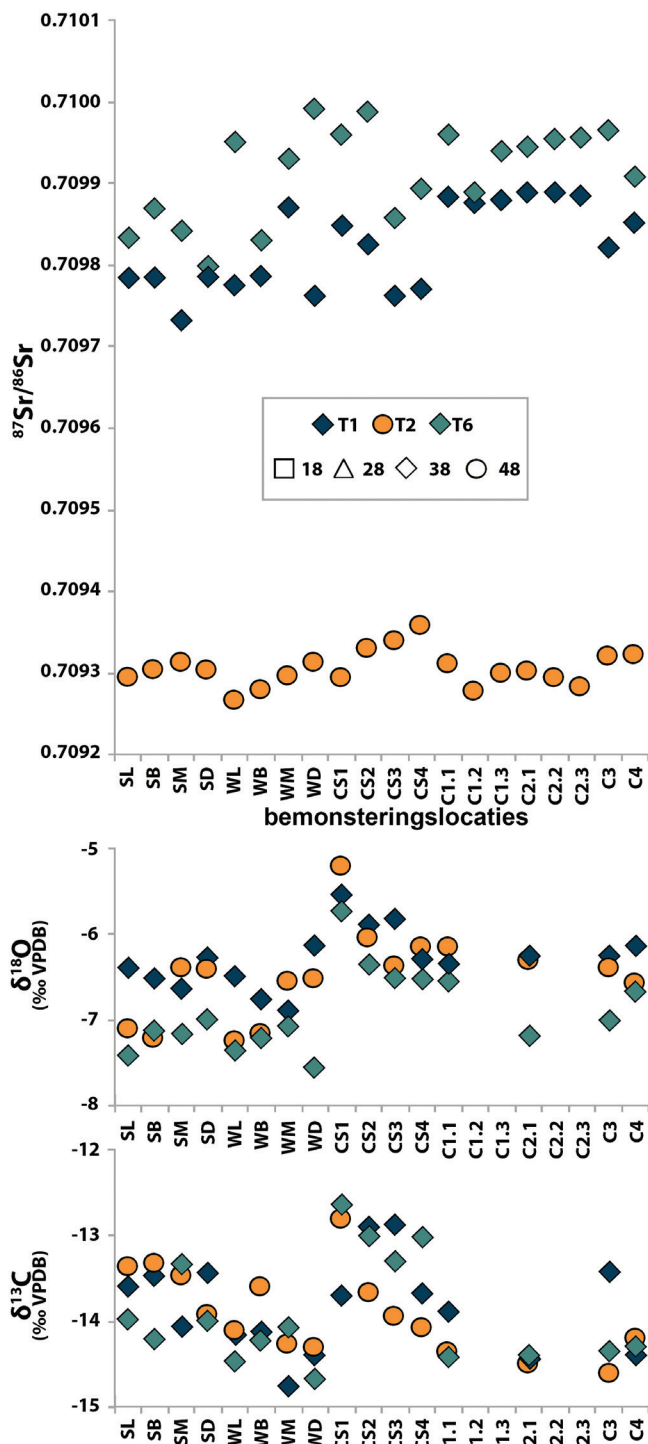
M2, M4, M5, M6, M7, M8,

M10, M14, M18 = Maastricht.

Isotopenvariatie

De 6 tot 20 bemonsteringslocaties van de moderne Nederlandse verstandskiezen lieten een aanzienlijke spreiding in de isotopenwaarden zien (**Figuur 6.3**). Vooral de waarden van strontium- en zuurstofisotopen van verschillende verstandskiezen van hetzelfde individu kwamen niet volledig overeen. Dit demonstreert dat een bemonsteringslocatie van één verstandskies niet altijd representatief is voor de andere verstandskiezen (of andere tanden en kiezen) in het gebit. Naarmate het aantal bemonsteringslocaties toeneemt, is er meer variatie in de isotopenwaarden zichtbaar. De isotopenvariatie binnen de verstandskiezen van één individu lijkt zelfs op de variatie die normaal zichtbaar is tussen verschillende individuen (variatie in een populatie). Met name de variatie in zuurstof- en koolstofisotopen was groot. Verstandskiezen vertonen de meeste variatie in de ontwikkeling van alle tanden in het gebit (zie **Hoofdstuk 3**), waardoor de spreiding van isotopenwaarden waarschijnlijk groter is dan in

Figuur 6.3 Strontium-, zuurstof- en koolstofisotopen data voor drie individuen: gelabeld als T1 (blauw), T2 (oranje) en T6 (zeegroen). De locatie van de verstandskies in de mond is aangegeven in het FDI World Dental Federation notatie systeem (ISO 3950) (zie ook **Tabel 3.2**). De symbolen geven aan waar de verstandskiezen zich bevinden in de mond: Vierkant = boven rechter verstandskies (18), Driehoek = boven linker verstandskies (28), Diamant = beneden linker verstandskies (38), Cirkel = beneden rechter verstandskies (48). De x-as geeft de bemonsteringslocaties weer van de 20 monsters.



andere tanden en kiezen. Uit nieuw onderzoek moet blijken of de isotopenvariatie in andere tanden en kiezen te vergelijken is met de verstandskiesdata.

Er was geen duidelijk verschil tussen het oppervlakte-glazuur en het binnenste-glazuur voor strontiumisotopen. Wel was er variatie in koolstof- en zuurstofisotopen tussen deze bemonsteringslocaties. Met name in het oppervlakte-glazuur werden verhoogde waarden van koolstofisotopen gevonden. Deze verhoogde waarden in het oppervlakte-glazuur kunnen drie verklaringen hebben:

- (1)** Het glazuur wisselt koolstofisotopen uit binnen de mond, bijvoorbeeld als het individu eten consumeert met andere isotopenwaarden dan het binnenste-glazuur.
- (2)** Het is mogelijk dat koolstofisotopen in het glazuur op een andere manier worden opgenomen dan de andere isotopen, waarbij de opname van koolstof de vorming van de lagen tijdens glazuurvorming volgt (in plaats van aan het einde van het vormingsproces een gemiddelde waarde vormt zoals nu wordt gedacht).
- (3)** Strontium- en zuurstofisotopen worden ook in lagen opgenomen in het glazuur, maar dit is nu onzichtbaar omdat alleen het dieet van de geanalyseerde individuen veranderde (en niet de locatie), waardoor er alleen een verschil in waarden zichtbaar is in de koolstofisotopen van het oppervlakte- en binnenste-glazuur.

Omdat we geen exacte informatie hebben over het dieet tijdens de vorming van de verstandskiezen is het lastig te bepalen waarom de koolstofisotopen verhoogd zijn in het oppervlakte-glazuur. Dit suggereert dat bemonstering van het oppervlakte-glazuur moet worden vermeden, voordat met name de opname van koolstofisotopen in glazuur beter is onderzocht.

Uit de vergelijking van strontiumisotopenanalyses van de gehele laag glazuur en één bemonsteringslocatie van het binnenste-glazuur is gebleken dat de waarden van deze twee analyses in 40% van de gevallen niet overeenkomen. De twee individuen die hierbij de grootste verschillen vertoonden, zijn opgegroeid in één locatie. Hieruit blijkt dat zelfs als individuen sedentair zijn, de isotopenwaarden van hun tanden een grote spreiding kunnen hebben. Hierdoor is één bemonsteringslocatie niet altijd representatief voor de gemiddelde isotopenwaarde van het glazuur. Het bemonsteren van de gehele glazuurlaag is echter ook geen ideale optie omdat dit een gemiddelde waarde is. De waarneembare variatie in kleine bemonsteringslocaties zou daarmee onzichtbaar zijn, omdat alles wordt samengevoegd in één isotopenwaarde.

Globalisatie

Om te kijken of de globalisering van supermarktproducten een effect heeft op de isotopenwaarden in verstandskiezen zijn de resultaten van individuen die geboren in de jaren '40-60 vergeleken met individuen geboren in de jaren '80 en '90. Van elke verstandskies werden zes monsters genomen. Een directe vergelijking blijft lastig omdat deze individuen niet allemaal op exact dezelfde locatie zijn opgegroeid (zie **Figuur 6.1**). Dit leidt waarschijnlijk al tot verschillen in de isotopenwaarden tussen de individuen. De individuen geboren in de jaren '80 en '90 hadden een bredere spreiding in hun isotopenwaarden (en dus een grotere isotopenvariatie) en lagere strontiumisotopenconcentraties in hun verstandskiezen dan de eerder geboren individuen. Deze vergelijking is echter gebaseerd op een kleine steekproef van zes individuen; er is vooral meer informatie nodig van individuen die geboren zijn voor de jaren '70 om iets te kunnen zeggen over het effect van de globalisering van het aanbod van supermarkten. Zo is er niet altijd een grote isotopenvariatie zichtbaar in de resultaten van individuen die geboren zijn na de jaren '70. Een groot aantal individuen in dit onderzoek (26 in totaal) geboren na 1972 vertoonden net als de individuen geboren in de jaren '40-60 weinig variatie in hun strontiumisotopenwaarden van de gehele glazuurlaag en de enkele bemonsteringslocatie.

Cariës

Deze studie geeft aan dat cariës geen noemenswaardig effect hebben op de isotopenwaarden van het onaangetaste glazuur van de verstandkies, waardoor het mogelijk is om een verstandskies met cariës te bemonsteren (zolang de cariës zelf niet bemonsterd worden). Om het effect van cariës nog beter in kaart te brengen, zouden toekomstige studies kunnen kijken naar de isotopenwaarden in hetzelfde type tanden (ontwikkeld tijdens dezelfde tijdsperiode) van hetzelfde individu waarvan in ieder geval één tand cariës heeft ontwikkeld en één tand gezond is. De resultaten van dit soort onderzoek zouden verder uitsluitsel kunnen geven of cariës ook een effect hebben op de isotopenwaarden van het gezonde tandglazuur.

Wel is duidelijk dat de gaatjes zelf niet bemonsterd moeten worden: met name de zuurstofisotopen zijn hoger in de gaatjes dan in het gezonde glazuur. Ondanks dat cariës in de meeste gevallen geen effect lijken te hebben op de strontium- en koolstofisotopen is de bemonstering van cariës niet aan te raden omdat het effect van cariës nog niet voldoende in kaart is gebracht en het onzeker is welke tijdsperiode geanalyseerd wordt. (Wanneer worden de cariës gevormd? Wanneer tasten de cariës de originele isotopenwaarde aan?)

Ook is er gekeken of cariës de isotopenwaarden opnemen van de omgeving waarin zij zijn gevormd. Hiervoor zijn verstandskiezen met gaatjes geanalyseerd van individuen die opgegroeid zijn in de Dominicaanse Republiek en Somalië en waarvan cariës ontwikkeld zijn in Nederland. De isotopenwaarden van de gaatjes kwamen nog steeds overeen met de verwachte isotopenwaarden van de geologie in de Dominicaanse Republiek en Somalië. Het lijkt er dus op dat cariës niet altijd de lokale isotopenwaarden overnemen. Als dit wel het geval zou zijn, zouden de gaatjes van deze individuen Nederlandse isotopenwaarden moeten vertonen.

Toekomstige studies

Uit deze studie blijkt dat bemonstering van het binnenste glazuur de voorkeur heeft. Daarbij maakt het niet uit welke locatie in het binnenste glazuur wordt bemonsterd, omdat deze verschillende locaties (aan de bovenkant en zijkant van de kies) doorgaans vergelijkbare isotopenwaarden hebben. Hoeveel monsters genomen moeten worden van één tand of kies hangt af van de onderzoeksvraag. Zo kan het zijn dat de isotopenvariatie van een individu nog vastgesteld moet worden of dat er wordt gekeken naar de levensgeschiedenis van een individu. Hiervoor is het handig om meerdere glazuurmonsters te nemen. Als er alleen een schatting nodig is van de isotopenwaarden is één bemonsteringslocatie echter vaak voldoende, omdat de isotopenvariatie niet groter zal zijn dan die binnen een populatie.

De huidige resultaten zijn voornamelijk gebaseerd op verstandskiezen van Nederlanders. Of dezelfde resultaten gevonden zouden worden in verstandskiezen van individuen afkomstig uit andere landen is momenteel nog onduidelijk. Hiervoor zouden moderne (of archeologische) samenlevingen onderzocht moeten worden uit andere omgevingen dan Nederland. Bij voorkeur zouden meer dan 20 individuen moeten worden geanalyseerd om een betrouwbare schatting te maken over de isotopenwaarden die kunnen voorkomen in één individu. Met name voor zuurstof- en koolstofisotopen zijn er grote veranderingen in de isotopenwaarden nodig om een verandering in dieet of locatie aan te kunnen tonen, omdat kleine afwijkingen veroorzaakt kunnen worden door biologische processen in het menselijk lichaam.

Hoofdstuk 7: Strontiumisotopen in modern menselijk tandglazuur en drinkwater in Nederland

Strontiumisotopenanalyse kan in forensische zaken gebruikt worden om informatie te geven over de geografische herkomst van een individu. In Nederland wordt dit soort onderzoek sinds 2015 gebruikt in onopgeloste zaken. Om betrouwbare informatie te verkrijgen is het belangrijk om genoeg referentiemateriaal (strontiumisotopenwaarden van de omgeving, zoals de lokale geologie, planten of dieren) te hebben om de isotopenwaarden van een individu of populatie te kunnen vergelijken. Dankzij referentiemateriaal kunnen de verwachte isotopenwaarden voor een omgeving worden bepaald. Tegenwoordig worden deze verwachte waarden ook wel grafisch weergegeven op kaarten, een zogenaamde isoscape (isotopenlandschap). Op het moment zijn er nog maar weinig isoscapes gebaseerd op voornamelijk menselijke isotopenwaarden.

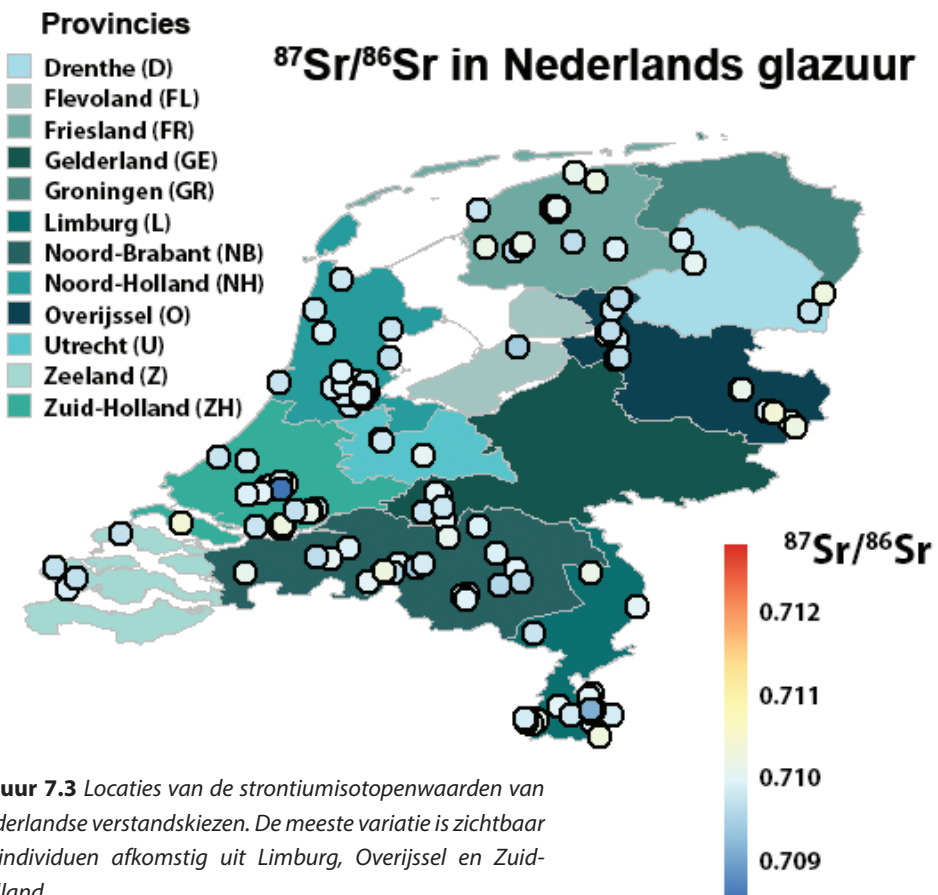
Om de strontiumisotopenvariatie in de Nederlandse populatie beter in kaart te brengen, zodat er in de toekomst een isoscape geconstrueerd kan worden, zijn verstandskiezen van 153 Nederlanders geanalyseerd. **Figuur 7.3** illustreert de strontiumisotopenvariatie tussen verschillende individuen die geboren en getogen zijn in Nederland. De data gebruikt voor dit figuur zijn afkomstig van vier verschillende datasets, waaronder de data die beschreven is in **Hoofdstukken 5 en 6**.

Om te bepalen of kraanwater representatief is voor de strontiumisotopenwaarden van het tandglazuur van mensen, zijn er naast de verstandskiezen ook nog 143 kraanwatermonsters geanalyseerd. De isotopenwaarden van het kraanwater kwamen overeen met de verwachte isotopenwaarden van de Nederlandse geologie (**Figuur 7.2**).

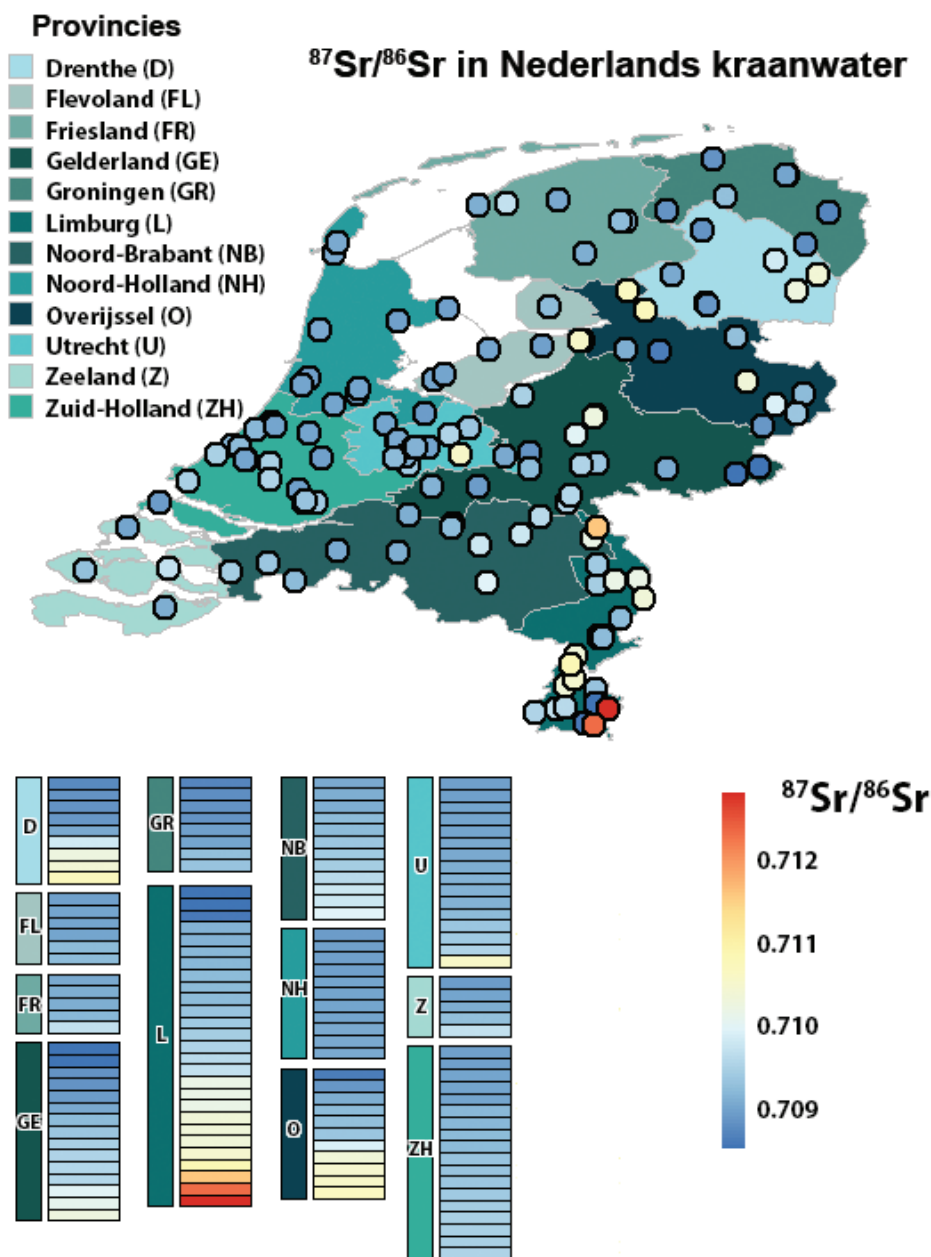
De isotopenwaarden van kraanwater en van mensen van dezelfde locatie zijn echter niet aan elkaar gerelateerd. Dit betekent dat de strontiumisotopenwaarden van kraanwater niet representatief zijn voor de isotopenwaarden van mensen en dat isoscapes gebaseerd op water waarschijnlijk onbruikbaar zijn om menselijke data direct mee te vergelijken. Het verschil tussen de data van kraanwater en verstandskiezen wordt waarschijnlijk veroorzaakt door de lage concentratie strontium in het kraanwater. Hierdoor draagt het kraanwater weinig bij aan het uiteindelijke isotopensignaal van menselijke weefsels. Omdat de menselijke strontiumisotopenwaarden afwijken van die van kraanwater, en daarmee dus ook van de lokale geologie, worden de strontiumisotopenwaarden van mensen waarschijnlijk voornamelijk

bepaald door de strontiumisotopen in het eten. Dit eten is echter niet altijd geproduceerd in de lokale omgeving en reflecteert daardoor niet altijd de isotopenwaarden van de lokale geologie. Vooral in een land als Nederland, wat sterk afhankelijk is van de import en export van voedsel, worden isotopenwaarden van eten afkomstig uit landen met andere geologische isotopenwaarden in menselijke weefsels opgenomen.

Het is daarom aan te raden om referentiewaarden voor isotopenanalyses niet te baseren op de isotopenwaarden van de lokale geologie of kraanwater, maar indien mogelijk menselijke weefsels te analyseren. Extra informatie, zoals data over de herkomst van geïmporteerd voedsel en isotopenanalyses van andere isotopensystemen zoals zuurstof, lood, koolstof en eventueel neodymium, kunnen aanvullende informatie geven. Hierdoor kunnen interpretaties gebaseerd op strontiumisotopenwaarden beter worden toegepast in forensische zaken.



Figuur 7.3 Locaties van de strontiumisotopenwaarden van Nederlandse verstandskiezen. De meeste variatie is zichtbaar in individuen afkomstig uit Limburg, Overijssel en Zuid-Holland.



Figuur 7.2 De locaties en een 'heatmap' van de kraanwater strontiumisotopenwaarden per provincie (Plomp & Peterson 2020). De meest variabele strontiumisotopenwaarden werden gevonden in kraanwater uit Limburg, Drenthe en Overijssel. Let op de uitschieter uit Kerkrade in Limburg in het rood.

Hoofdstuk 8: Discussie & Conclusie

Dit proefschrift heeft twee hoofddoelen. Allereerst de ontwikkeling van de neodymiumisotopentechniek voor de analyse van menselijk tandglazuur om zo informatie te verkrijgen over de geografische herkomst van een individu. Ten tweede om de toepassing van bestaande isotopentechnieken (strontium, zuurstof en koolstof) kritisch te evalueren door de variatie in isotopenwaarden te kwantificeren. Zowel de ontwikkeling van nieuwe technieken als de verfijning van bestaande technieken zullen het mogelijk maken om de interpretaties van het dieet en de mobiliteit van mensen te verbeteren.

Discussie

Door technologische ontwikkelingen kunnen nieuwe isotopensystemen, zoals neodymium, worden gebruikt om menselijke weefsels te analyseren. Dit proefschrift beschrijft de eerste resultaten van analyse van neodymiumisotopen in menselijk tandglazuur (zie **Hoofdstuk 4** en **5**). De resultaten van deze veertig individuen vormen de basis voor de eerste evaluatie van de techniek. De neodymiumisotopenwaarden van de meerderheid van deze individuen komen overeen met de lokale geologie waar de individu verbleef op het moment dat de verstandskies werd gevormd. Hierdoor lijkt het erop dat de geologie de bepalende factor is in de samenstelling van de neodymiumisotopenwaarden in het tandglazuur. Dit betekent dat neodymiumisotopenanalyses kunnen worden toegepast om aanvullende informatie over mobiliteit van individuen te geven. Deze informatie kan worden gebruikt in combinatie met informatie die bestaande isotopenanalyses zoals strontium en zuurstof geven. Desondanks komen de neodymiumisotopenwaarden van vijf van de 30 individuen niet overeen met die van de lokale geologie. Deze afwijkingen zijn lastig te interpreteren met de beperkte data.

De analyse van neodymiumisotopen wordt vooralsnog beperkt door de grote hoeveelheid monster die nodig is en de benodigde meetapparatuur (met de laatste versterkers, $10^{13} \Omega$). Naarmate de technologie zich verder ontwikkelt zal de analyse toegankelijker worden en breder kunnen worden toegepast. Voor deze toepassing is de analyse van monsters uit andere landen en geologische gebieden nodig. Ook is er meer onderzoek nodig naar neodymiumisotopen in de voedselketen. Resultaten van planten en voedselproducten kunnen meer licht werpen op het opnameproces van neodymiumisotopen in het menselijk lichaam en gebruikt worden als achtergrondsignaal waarmee menselijke neodymiumisotopenwaarden kunnen worden vergeleken. Om de invloed van andere bronnen van neodymiumisotopen te bepalen, is ook verder onderzoek nodig. Hierdoor krijgen wij een beter beeld van de rol van fijnstof,

antropogene bronnen als elektronica en kunstmest en de globalisering van de voedselmarkt.

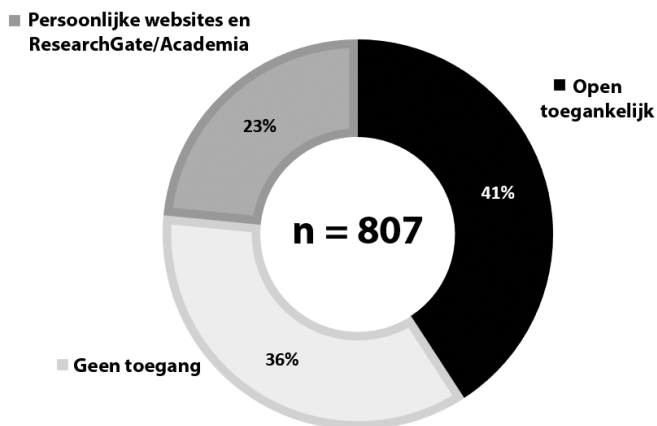
Voor een beter inzicht over de vorming van tandglazuur zijn de laatste technologische ontwikkelingen ook belangrijk. Zo kan 'synchrotron imaging', de laatste generatie aan röntgenstraling techniek, 3D informatie geven over de structuur en samenstelling van tanden. Deze afbeeldingen worden gegenereerd zonder de tand te beschadigen en geven een hogere resolutie dan traditionele microscopie. Dit biedt mogelijkheden om de kennis over de vorming van glazuur te verbeteren (zie **Hoofdstuk 3**).

De variatie in isotopenwaarden binnen één individu en binnen één populatie blijft een belangrijke factor binnen het veld van isotopenbiochemie (zie **Hoofdstuk 6**). Archeologische studies hebben de variatie binnen populaties en tussen verschillende populaties al in kaart gebracht, maar de isotopenvariatie in de menselijke weefsels van één individu zijn minder goed onderzocht. Er bestaan nog altijd geen studies waar meerdere bemonsteringslocaties van archeologisch tandglazuur van dezelfde tand worden geanalyseerd op dezelfde wijze als in **Hoofdstuk 6**. Dit komt omdat onderzoekers aannemen dat de isotopenvariatie in het glazuur een gemiddelde waarde representeert wat de analyse van meerdere monsters van dezelfde tand overbodig zou maken. De grote variatie in de isotoopsystemen beschreven in **Hoofdstuk 6** toont echter aan dat we voorzichtig moeten zijn met interpretaties over veranderingen in locatie en dieet van individuen op basis van één monster. Als de isotopenvariatie binnen een individu of een populatie nog niet vastgesteld is (of als er geen achtergrondinformatie over het dieet en de omgeving beschikbaar is), is het lastig om veranderingen in dieet en locatie vast te stellen, omdat afwijkende waarden ook veroorzaakt kunnen worden door biologische processen in het menselijk lichaam. Meer analyses van verschillende weefsels van hetzelfde individu zijn nodig om deze processen beter te begrijpen. Nieuwe technieken, zoals de isotopenanalyse van specifieke aminozuren in bot kunnen een beter beeld geven over het dieet van een individu en de verwachte variatie in de isotopenwaarden van koolstof. Ook de toepassing van meerdere isotopentechnieken, ook wel multi-isotopenanalyses genoemd, geven aanvullende informatie. Het toepassen van meerdere technieken voorkomt dat we te veel waarde hechten aan afwijkende resultaten van één isotoopsysteem die niet altijd representatief zijn voor een daadwerkelijke verandering in het dieet of locatie.

Om de kwaliteit en toepasbaarheid van isotopenonderzoek te verbeteren, moeten de resultaten van het onderzoek toegankelijk worden gemaakt voor andere onderzoekers en het bredere publiek. Op dit moment vindt de communicatie van onderzoeksresultaten voornamelijk plaats

via artikelen in wetenschappelijke tijdschriften. Deze tijdschriften zijn echter niet voor iedereen toegankelijk (zie **Figuur 8.1**). Bovendien is er in deze tijdschriften meestal geen plaats voor de gebruikte data. Het is noodzakelijk dat niet alleen de artikelen, maar ook de data openlijk worden gedeeld zonder dat men hiervoor moet betalen. Het delen van deze resultaten kan daarbij het beste de FAIR-principes volgen: Findable, Accessible, Interoperable en Reusable (vindbaar, toegankelijk, uitwisselbaar en herbruikbaar). Volgens de FAIR-principes zou elke onderzoekoutput online vindbaar en toegankelijk moeten zijn via een vaste link.

Toegang tot referenties in dit proefschrift



Figuur 8.1 Overzicht van de referenties die in dit werk worden gebruikt ($n = 807$) en hun toegankelijkheid. Het merendeel van de gebruikte literatuur is ofwel 'open access' gepubliceerd of gearchiveerd in een archief ($n = 332$) en daarmee toegankelijk voor iedereen. Een deel van de literatuur is openlijk beschikbaar via persoonlijke websites of commerciële providers zoals ResearchGate en Academia. Dit is geen duurzame oplossing om toegang te verlenen tot deze publicaties ($n = 188$). Een groot deel van de literatuur is niet toegankelijk voor personen zonder institutionele toegang ($n = 287$). De referentielijst in dit werk (zie <https://doi.org/10.5281/zenodo.3929551>, *UnlockingTeeth.pdf*) bevat geen werken waartoe geen toegang was, zelfs niet met institutionele privileges.

De publicatie van datasets wordt steeds gebruikelijker. De documentatie van de data moet echter verbeterd worden voordat deze datasets hergebruikt of gecombineerd kunnen worden met andere datasets voor nieuw onderzoek. Zo is het essentieel dat de gebruikte onderzoeksprocedures transparanter en inzichtelijker worden, zoals bijvoorbeeld de gebruikte bemonsteringsprotocollen, meetprocedures, berekeningen en instellingen van de meetapparatuur. Door de standaardisatie van de onderzoeksprocedures (door bijvoorbeeld uitwisseling van monsters en labprotocollen tussen verschillende isotopenlaboratoria) verbetert de compatibiliteit van de verschillende datasets. Als datasets beter vergelijkbaar zijn, kunnen er bijvoorbeeld isoscapes (kaarten met daarop de verwachte spreiding van de isotopenwaarden) gemaakt worden voor grotere gebieden. Hiermee is het mogelijk om nieuwe onderzoeksvragen te beantwoorden en de huidige interpretaties verder te verbeteren. Om data gemakkelijk te kunnen delen met anderen en om de data te bewaren voor de toekomst is de ontwikkeling van online data-archieven essentieel. Een voorbeeld hiervan is IsoArch (www.isoarch.eu).

Om ervoor te zorgen dat data herbruikbaar is, zullen de gegevensverzameling, analyses en rapportages steeds meer gestandaardiseerd moeten worden. Het gebruik van software om gegevens te analyseren zal het proces standaardiseren en versnellen in vergelijking met handmatige analyse. Daarnaast bevatten geautomatiseerde analyses minder fouten dan handmatige analyses. Zo wordt het gemakkelijker om resultaten te interpreteren en om voort te bouwen op eerder onderzoek.

In forensische zaken hebben de laatste ontwikkelingen in het biotechnologische veld een effect op de interpretatie van isotopenanalyses. Zo is het nu mogelijk om kunstmatig het glazuurvormingsproces opnieuw op te starten. Hoewel dit een gunstige ontwikkeling is voor de tandheelkundige gezondheid van de moderne mens, kan de nieuwe vorming van glazuur het oorspronkelijke isotopensignaal overschrijven waardoor het isotopensignaal van de kindertijd verloren gaat. Ook restauratie-elementen (zoals vullingen) kunnen een effect hebben op de isotopenwaarden in de tand. Op dit moment worden deze gerestaureerde tanden niet geanalyseerd, waardoor de selectie voor monsters in met name forensische zaken wordt beperkt.

Naast neodymium zijn er ook nog andere isotopensystemen die toegepast zouden kunnen worden op menselijk weefsel. Potentiële kandidaten voor dieetanalyses zijn calcium, lithium, waterstof, koper en zink. Cadmiumisotopen zouden bijvoorbeeld informatie kunnen verschaffen

over voedingspatronen of rookgedrag. De toenemende toepassing van loodisotopenanalyse kan ook meer licht werpen op de levensgeschiedenis en mobiliteitspatronen van mensen.

Hoewel bot vaak ongeschikt is voor isotopenanalyses, gaat de zoektocht naar nieuwe toepassingen op menselijk weefsel verder. Momenteel wordt onderzocht of er in het harde stuk bot van de schedel bij het oor isotopenwaarden bewaard blijven. Het lijkt erop dat dit het geval is, mits het bot gecremeerd is. Dankzij de verbranding van het bot kan het net zo hard worden als tandglazuur, waardoor de isotopenwaarden bewaard blijven.

Conclusie

In het kader van het NEXUS1492 project is er succesvol een nieuwe isotopentechniek voor de analyse van menselijk tandglazuur opgezet (neodymiumisotopen) en is er kritisch gekeken naar al bestaande isotopenmethodes (strontium, zuurstof en koolstof).

Neodymiumisotopenanalyse kan aanvullende informatie geven over mobiliteitspatronen, wat momenteel niet mogelijk is met enkel het gebruik van de bestaande technieken. De toepassing van neodymiumisotopenanalyse zou vooral uitkomst kunnen bieden in het Caraïbisch gebied. Omdat neodymiumisotopen minder beïnvloed worden dan andere isotoopsystemen als strontium en zuurstof in kustregio's, zoals de Caraïben, geven zij betrouwbaardere informatie over de geografische omgeving. Vergeleken met strontiumisotopen worden neodymiumisotopen in kustmilieus niet beïnvloed door de isotopenwaarden van zeewater. In tegenstelling tot zuurstofisotopen, die vergelijkbare waarden hebben in kustgebieden, zullen neodymiumisotopen makkelijker onderscheid kunnen maken in verschillende kustregio's. Deze informatie kan daarmee bijdragen aan een gedetailleerder beeld van vroegere menselijke mobiliteitspatronen in het Caraïbisch gebied.

Het is van belang dat de variatie in isotopenwaarden van tanden beter wordt gekwantificeerd om de archeologische en forensische interpretaties op basis van deze resultaten te verbeteren. In dit proefschrift is aangetoond dat een enkele bemonsteringslocatie niet representatief is voor de totale isotopenvariatie van strontium, zuurstof en koolstof in het tandglazuur. Wel is aangetoond dat het niet uitmaakt waar de bemonstering plaatsvindt (aan de zijkant of bovenkant van de tand) zolang het binnenste glazuur wordt bemonsterd. Als cariës ontwikkelen in een tand kan dit gedeelte van de tand niet gebruikt worden voor isotopenanalyses, omdat het niet duidelijk is wat het effect van cariës is op de isotopenwaarden.

Dit onderzoek kwantificeert de isotopenvariatie voor de moderne mens in Nederland. Verder onderzoek is nodig voor andere populaties in andere geologische en klimatologische omgevingen om de variatie in isotoopsystemen beter vast te stellen. De kwantificatie van de isotopenvariatie in tanden zal leiden tot robuustere interpretaties van dieet en mobiliteit in archeologisch en forensisch onderzoek. Voor het Caraïbisch gebied betekent dit dat de reconstructie van de impact van de interacties van de Amerindiaanse bevolking met de Europese en Afrikaanse populaties na 1492 kan worden verbeterd.

Isotopenanalyses moeten altijd toegepast worden in combinatie met andere technieken. Isotopenanalyses zijn destructief, waardoor andere analyses (zoals slijtage, leeftijd schattingen, DNA of metrische analyses) eerst moeten worden uitgevoerd. De isotopenanalyses van een individu moeten altijd worden geïnterpreteerd binnen de specifieke archeologische of forensische context van het individu. Dit is belangrijk, omdat we steeds beter in staat zijn om verschillende datasets samen te voegen. De verbetering in de standaardisatie en transparantie van de analytische procedures in isotopenanalyses maakt het makkelijker om resultaten van verschillende laboratoria te interpreteren en te vergelijken. Door isotopenanalyses van verschillende laboratoria te combineren en deze aan te vullen met de informatie van andere technieken en analyses kunnen nieuwe onderzoeksvragen beantwoord worden, waardoor de informatie die menselijke tanden bevatten steeds verder wordt ontsloten.

