

**Berliner Beiträge**  
**zur**  
**Archäometrie, Kunsttechnologie**  
**und Konservierungswissenschaft**

Band 23

Berlin 2015



**Rathgen-Forschungslabor**  
Staatliche Museen zu Berlin

Herausgeberin:

Dr. habil. Ina Reiche  
Rathgen-Forschungslabor, Staatliche Museen zu Berlin –  
Stiftung Preußischer Kulturbesitz  
Schloßstraße 1 a  
14059 Berlin

Redaktionsassistentin:

Sabrina Buchhorn  
Rathgen-Forschungslabor, Staatliche Museen zu Berlin –  
Stiftung Preußischer Kulturbesitz

© 2015 Staatliche Museen zu Berlin –  
Stiftung Preußischer Kulturbesitz

Herstellung:

Buch- und Offsetdruckerei H. Heenemann GmbH & Co. KG  
Bessemerstraße 83–91  
12103 Berlin  
Printed in Germany

ISSN: 0344-5089

# Inhalt

<b>Scanning macro-X-ray fluorescence analysis and Neutron Activation Auto Radiography: Complimentary imaging methods for the investigation of historical paintings</b>	9
MATTHIAS ALFELD, CLAUDIA LAURENZE-LANDSBERG, ANDREA DENKER, KOEN JANSSENS AND PETRIA NOBLE	
<b>Analysen von Gelbpigmenten in Gemälden der Deutschen Malerei des 17. Jahrhunderts im Bestand der Berliner Gemäldegalerie</b>	15
CRISTINA LOPES AIBÉO, SABINE SCHWERDTFEGER, INA REICHE, UTE STEHR, SANDRA STELZIG	
<b>Prussian Silk Dyeing in the 18th Century – Scientific Analysis of the Colourants</b>	29
JENS BARTOLL	
<b>Untersuchung der Maltechnik und der Alterungsphänomene einer buddhistischen Wandmalerei aus der Tempelruine Alpha (10./11. Jahrhundert, Chotscho, Xinjiang, China) vom Museum für Asiatische Kunst, Staatliche Museen zu Berlin</b>	41
ELLEN EGEL, ANGELA MITSCHKE, TORALF GABSCH, INA REICHE	
<b>Die Skulpturen des Triumphkreuzes der Naumburger Moritzkirche – Untersuchungen zur Restaurierungsgeschichte und Kunsttechnologie Teil 1</b>	53
DIETER KÖCHER	
<b>Investigation of Ancient Egyptian Metallic Artefacts by Means of Micro-Computed Tomography</b>	79
GIULIA DI MATTEO, ANDREAS STAUDE, ROBERT KUHN, IRIS HERTEL, FRIEDERIKE SEYFRIED AND INA REICHE	
<b>Die Haaranalysen aus dem Skythengrab Olon-Kurin-Gol 10, Kurgan 1</b>	85
SONJA KRUG, KLAUS HOLLEMEYER, ACHIM UNGER, STEFAN SIMON, HERMANN PARZINGER, VJACESLAV IVANOVIC MOLODIN	
<b>Comparative study between four consolidation systems suitable for archaeological bone artefacts</b>	103
AZZURRA PALAZZO, BARTOLOMEO MEGNA, INA REICHE, JULIETTE LEVY	
<b>Study on the indoor air quality in six museums in Berlin, Tehran and Mumbai</b>	109
MANIJEH HADIAN DEHKORDI, STEFAN RÖHRS, CHRISTOPH HERM, STEFAN SIMON, CRISTINA LOPES AIBÉO	
<b>Fakultativ materialschädigende und invasive Schadinsekten in den Sammlungen der Staatlichen Museen zu Berlin</b>	119
BILL LANDSBERGER	

# Die Haaranalysen aus dem Skythengrab Olon-Kurin-Gol 10, Kurgan 1

Sonja Krug<sup>1</sup>, Klaus Hollemeyer<sup>2</sup>, Achim Unger<sup>3,4</sup>, Stefan Simon<sup>4,5</sup>, Hermann Parzinger<sup>6</sup>, Vjaceslav Ivanovic Molodin<sup>7</sup>

<sup>1</sup> Bundesanstalt für Materialforschung und -prüfung (BAM), 4.5 Kunst- und Kulturgutanalyse, Berlin

<sup>2</sup> Institut für Technische Biochemie, Universität des Saarlandes, Saarbrücken

<sup>3</sup> Fachhochschule Potsdam, Studiengang Konservierung und Restaurierung/Holz

<sup>4</sup> Rathgen-Forschungslabor, Staatliche Museen zu Berlin, Stiftung Preußischer Kulturbesitz

<sup>5</sup> Yale University, Institute for the Preservation of Cultural Heritage, West Haven, USA

<sup>6</sup> Stiftung Preußischer Kulturbesitz, Berlin

<sup>7</sup> Institute of Archaeology and Ethnography Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Novosibirsk Russian Federation

## 1 Einführung

Das Grab des Skythenkriegers, des Kurgan Olon-Kurin-Gol aus dem südlichen Altai-Gebirge (Mongolei) wurde im Juli 2006 von Prof. Dr. Hermann Parzinger, dem damaligen Präsidenten des Deutschen Archäologischen Instituts (DAI), heute der Stiftung Preußischer Kulturbesitz (SPK), und einem internationalen Forscherteam entdeckt. Die organischen Substanzen haben sich aufgrund der günstigen klimatischen Verhältnisse über die Zeit hinweg teilweise sehr gut erhalten. Der Grabhügel lag in einer Höhe von 2.500 Metern und war von Eis umschlossen. Die Funde wurden geborgen und zu weiteren Untersuchungen sowie deren Konservierung nach Russland gebracht. 35 Proben von verschiedenen Bekleidungsstücken und Grabbeigaben gelangten im Dezember 2006 durch Prof. Dr. Unger in das Rathgen-Forschungslabor Berlin (RF). In diesem Artikel werden allein die Analysen der 16 Proben aus Fell, Haar und Filz diskutiert (s. Tabelle 1).

## 2 Methoden

### 2.1 Mikroskopische Verfahren

Die 16 Fundproben des Kurgan Olon-Kurin-Gol wurden im zoologischen Labor der Humboldt-Universität zu Berlin im Rasterelektronenmikroskop (REM) und im RF unter dem Lichtmikroskop (LM) und dem Environmental Scanning Electron Microscope (ESEM) untersucht.

#### 2.1.1 Rasterelektronenmikroskopie (REM)

Die Präparation erfolgte in einem Polaron SC7640 Sputter Coater. Dort wurden die Proben mit Gold-Palladium 240 s lang bei 1 kV, 18mA und 0,05 bar besputtert. Danach erfolgte die Untersuchung im Rasterelektronenmikroskop LEO 1450 VP bei folgenden Parametern in verschiedenen Vergrößerungen: 10 kV, Fil Target 2,9 A, Spot Size 300 µm, Beam Current 80 µA. Die Betrachtung der Cuticula erfolgt nach *Petraco und Kubic* 2003. Weitere Schlüssel, die bei der Auswertung behilflich sein können sind von *Teerink* 2004 und *Meyer, Hülmann, Seger* 2002.

**Tabelle 1:** Auflistung der Tierhaarproben

Proben-Nr.	Bezeichnung	Beschreibung
1/1	Kopfbedeckung	Lose Filzfragmente
4/1	Mantel	Blaue Fasern, mit Preventol R80 behandelt
4/2	Mantel	Rote Fasern, mit Preventol R80 behandelt
4/3	Mantel	Fasern vom unteren Randbereich, mit Preventol R80 behandelt, russ. Bestimmung Hirsch
4/4	Mantel	Fasern, mit Preventol R80 behandelt Tierart [russ. Bestimmung: Eichhörnchen]
4/5	Mantel	Fasern, mit Preventol R80 behandelt Tierart
4/6	Mantel, linker Ärmel	Fasern, mit Preventol R80 behandelt Tierart [russ. Bestimmung: Zobel]
4/7	Mantel, Kragen Oberseite	Fasern, mit Preventol R80 behandelt Tierart
4/8	Mantel, Kragen Unterseite	Fasern, mit Preventol R80 behandelt Tierart
5/1	Hose, linkes Bein, Innenseite	Faden
6/2	Stiefel	Filz
9/1	Kammhülle, Außenseite	Fasern
9/2	Kammhülle, Innenseite	Fasern
13/1	Köcher	Fasern
15/1	Köcherhaube	Rote Fasern (Troddeln)
15/2	Köcherhaube	Gelbe Fasern (Troddeln)

2.1.2 Lichtmikroskopie (LM)

Aufbau und Struktur von Cortex und Medulla der untersuchten Proben wurden nach *Petraco und Kubic 2003* verglichen. Die Untersuchungen erfolgten an einem Binokular der Firma Zeiss, Axioplan im Rathgen-Forschungslabor. Die Haare wurden mit der Einzieh-Methode nach *Wülfert 1999* als Dauerpräparat eingebettet. Als Einschlußmedium diente Cargille Melmount™ mit einem Brechungsindex von  $n_D = 1,662$ . Im Anschluss an die Präparation wurden die Proben im Mikroskop fotografiert. Es existieren sowohl analoge als auch digitale Aufnahmen im Archiv des RFs.

2.1.3 Environmental Scanning Electron Microscope (ESEM)

Die Untersuchung erfolgte mit dem Elektronenmikroskop Quanta 200 der Firma Fei in verschiedenen Vergrößerungen bei folgenden Parametern: Mit der Untersuchung im Niedervakuumbereich entfiel die normalerweise vorhergehende Probenpräparation.

2.1.4 Referenzproben für die Mikroskopie

Als Referenz wurden Haarproben aus der Säugetiersammlung des Museum für Naturkunde Berlin gesammelt, präpariert und unter verschiedenen Mikroskopen fotografiert. Die Auswahl erfolgte unter Berücksichtigung des heutigen Wissens zur Fellnutzung nach der geographischen Plausibilität der einzelnen Tierarten sowie nach der makroskopischen Ähnlichkeit zu den Originalproben.

2.2 Tierartbestimmung mittels MALDI-TOF Massenspektrometrie (SIAM)

Die Methode zur Tierartbestimmung mittels MALDI-TOF Massenspektrometrie wurde zur Identifizierung des tierischen Ursprungs von naturbelassenen Federn, Daunen und Haaren entwickelt (*Hollemeyer et al. 2002, Hollemeyer et al. 2007*). Aminosäuresequenzen der Keratin-Proteine, der Hauptbestandteile von Federn, Daunen und Haaren variieren innerhalb unterschiedlicher Tierarten (*Folin & Contiero 1996, Rogers et al. 2006, Rogers 2004*). Tryptischer Verdau dieser Keratine, gefolgt von massenspektrometrischer Charakterisierung der durch

**Tabelle 2:** Auflistung der als Referenzen herangezogenen Tierarten und ihrer Fundorte

Tier	Fundort	Tier	Fundort
Luchs, <i>Lynx lynx</i>	Gyantse, Tibet	Schneeleopard, <i>Uncia uncia</i>	SU
Viefraß, <i>Gulo biedermani</i>	W-Sibirien, Tscholesman Gletscher	Moschushirsch, <i>Moschus moschiferus</i>	Tibet
Fuchs, <i>Vulpus vulpus</i>	Ahrgan Steppe, südl. des Aras	Reh, <i>Capreolus</i>	Tuchheim, Magdeburg
Katze, <i>Felis catus tawascus sat</i>	Mugan Steppe, südl. Aras	Ziege, <i>Capra sibirica</i>	Altai, Tscholesmantal
Braunbär, <i>Ursus arctos</i>	Altai, Teleskos Berge	Elch, <i>Alces alces</i>	Ostpreußen
Pallas-Katze, <i>Felis manul</i>	Südl. Altai	Wildschaaf, <i>Ovis vignei</i>	Persien
Zobel, <i>Martes zibellina</i>	Sibirien	Pferd, <i>Equus przewalskii</i>	Tierpark Berlin
Dachs, <i>Meles meles</i>	Altai	Murmeltier, <i>marmota bobac</i>	Sibirien
Buntmarder, <i>Martes glavi-gula</i>	Mongolei/ W-Sibirien	Murmeltier, <i>marmota sibirica</i>	Nordmongolei
Hermelin, <i>Mustela erminea</i>	Telezker Berge SU	Murmeltier, <i>marmota sibirica</i>	Altai, Telezker Berge
Hase, <i>Lepus cf. lapensis</i>	Südrand des mongol. Hochlands	Murmeltier, <i>marmota himalayana</i>	Indien, Nordsikkim
Ziesel, <i>Spermophilus undulatus</i>	300 km s/w Ulan Bantor	Murmeltier, <i>marmota baibacina</i>	Sibirien
Steppeniltis, <i>Mustela eversmanni</i>	Altai, Tansk	Burunduk, <i>Tamias sibiricus</i>	Kl. Hsingan
Wolf, <i>Canis lupus</i>	Neschiwov Narynsk	Waldlemming, <i>Myopus schisticolor</i>	Ostsibirien, 1901
Rothund, <i>Cuon alpinus</i>	Altai	Pfeifhase, <i>Ochotona hyperborea</i>	Keuko, Innere Mongolei, 1956
Feuerwiesel <i>Mustela sibirica</i>	Waszenskaja	Alpenschneehase, <i>Lepus timidus</i>	Slonim SU
Altai-Wiesel, <i>Mustela altaica</i>	Altai, Katon Karagai	Rentier, <i>Rangifer tarandus</i>	Spitzbergen, 1898
Eichhörnchen, <i>Sciurus vulgaris</i>	Sibirien	Flughörnchen, <i>Pteromys volans var. alba</i>	Sibirien
Eichhörnchen, <i>Sciurus vulgaris</i>	Finder: Emil (?) Brass	Fischotter, <i>Lutra lutra</i>	China

den Verdau entstandenen Gesamtheit an Spaltpeptiden stellte sich als brauchbare Methode zur Tierartunterscheidung dar (Hollemeier et al. 2002, Hollemeier et al. 2007). Die Mehrheit der erzeugten Spaltpeptide ist dabei für zoologische Ordnungen und Familien charakteristisch. Zusätzlich werden jeweils spezielle Peptide gefunden, die bis zur Tierartebene hinab spezifisch sind. Diese diagnostisch genannten Signale können für eine visuelle Präidentifikation genutzt werden, wie auch zum Ausschluss bzw. der Identifikation einer Tierart, zusätzlich zu mathematischen Ähnlichkeitsberechnungen der spektralen Signale aus der Gesamtheit der Spaltpeptide. Als Maß der zoologischen Verwandtschaft dienen Ähnlichkeitsberechnungen mittels Korrelationsdistanzen, eine speziellen Form der Euklidischen Distanz-Berechnung.

Berücksichtigt man das Alter der archäologischen Proben, so wurden verringerte spektrale Ähnlichkeitsmuster, verglichen mit modernen Referenzproben, erwartet, welche durch Oxidations- und Zerfallsprozesse innerhalb der antiken Keratinketten der Haare stattgefunden hatten (Folin & Contiero 1996).

### 2.2.1 Referenzproben für die MALDI-TOF (SIAM)

Tierhaare von Resten der Bekleidungsstücke des Skythenkriegers wurden untersucht. Pelz- Referenzstücke wurden vom Deutschen Pelz-Groß- und Außenhandelsverband e.V. in Frankfurt, Deutschland bezogen, von der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. F.-J. Wortmann, Deutsches Wollforschungsinstitut an der RWTH Aachen e.V., Deutschland, ebenso vom Pelzatelier Hildegard Pick in Dreieich, Deutschland, sowie vom Senckenberg Museum in Frankfurt und vom Museum für Naturkunde in Berlin. Referenzproben domestizierter Tiere wurden teilweise vom Institut für Technische Biochemie der Universität des Saarlandes in Saarbrücken, Deutschland, gesammelt bzw. wurden von SGS UNITED KINGDOM LIMITED, South Wirral, Cheshire und von LGC Limited, Teddington, beide in Großbritannien geschickt.

Diese Referenzproben umfassten den Großteil der Säugetierfauna der Alpenregion, erweitert um zusätzliche Säugetierarten der Himalaya-Bergregion sowie topographisch irrelevante Fauna, letztere als Negativkontrollen. Naturbelassene Haarproben wurden in dieser Studie bevorzugt. Chemisch prozessierte Fellproben wurden nur dann benutzt, wenn keine anderen Proben zur Verfügung standen.

Trypsin aus Schweinepankreas mit einer Aktivität von 1645 U/mg wurde von Fluka in Deisenhofen, Deutschland, bezogen. Trifluoressigsäure (TFA),  $\alpha$ -Cyano-4-Hydroxymethylsäure (HCCA), 2-Mercaptoethanol, Ammoniumbicarbonat und Acetonitril p.a. wurden von Merck in Darmstadt, Deutschland, geliefert. Das Applied-Biosystems 4700 Proteomics Analyzer Standard Kit wurde von Applied Biosystems in Darmstadt bezogen.

### 2.2.2 Proben Vorbereitung für die

#### MALDI-TOF- Massenspektrometrie

Etwa 0,3 bis 0,5 mg Haar wurde jeweils eingewogen, auf etwa 0,2 mm Länge geschnitten und in 8-well-PCR-Streifen, Biozym Diagnostik GmbH in Hessisch Oldendorf,

Deutschland, überführt, die 50  $\mu$ l einer 25 mM  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$ -Lösung, 5 % (v/v) 2-Mercaptoethanol enthielten und vollständig mit Flüssigkeit benetzt. Die Gefäße wurden verschlossen und in einem kochenden Wasserbad für 20 min. erhitzt, danach auf Eis abgekühlt, mit 50  $\mu$ l einer 25 mM  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$ -Lösung, 5 mg/ml Trypsin aufgefüllt und gut durchmischt. Die Gefäße wurden danach für 2 h mit 37°C inkubiert. 5  $\mu$ l eines jeden Gefäßes wurde mit je 45  $\mu$ l einer gesättigten HCCA-Lösung in 50 % Acetonitril, 1 % TFA sorgfältig gemischt. 0,8  $\mu$ l wurden jeweils manuell in redundanter Form auf die stählerne MALDI-Targetplatte pipettiert und getrocknet (Dried-Droplet-Methode).

### 2.2.3 MALDI-TOF Massenspektrometrie

Die Analysen wurden auf einem 4800 TOF/TOF Massenspektrometer der Firma Applied Biosystems in Darmstadt in positivem Ionenmodus durchgeführt. Das System besitzt einen gepulsten 200 Hz Festphasen Nd:YAK Laser mit einer Wellenlänge von 355 nm. Die Laser-Energie wurde für Standards auf 2650 U gesetzt, während die realen Proben mit 3000 U Laserenergie gemessen wurden. Die Spannung der Quelle 1 wurde auf 20 kV mit einer Gitterspannung von 16 kV eingeregelt, der Reflektor-Detektor auf 2.19 kV gesetzt. Die Spektren der Standardpeptide überdeckten einen Kalibrationsbereich, der von 0,8 k–4 kDa reichte. Des-arg-1-Bradykinin, Angiotensin 1, Glu1-Fibrinopeptid B, ACTH 1-17, ACTH 18-39 und ACTH 7-38 wurden mit einer Verzögerungszeit von 600 ns gemessen. Ein Massenspektrum wurde aus 20 Subspektren gemittelt, die wiederum aus je 25 Laserschüssen addiert worden waren. Von den 6 Standardpeptiden wurden jeweils nur die monoisotopischen Massen mit einem Mindest-Signal-Rauschverhältnis von 20 und einer Mindestauflösung von 10 000 akzeptiert. Die Massentoleranz war auf 0,2 Da und ein maximaler Ausreißer auf 5 ppm begrenzt. Diese Kalibrierparameter wurden auf reale Proben angewendet, um Massenspektren im Bereich von 1–3,5 kDa mit einem Mindest-Signal-Rauschverhältnis von 10 und einer Mindestauflösung von 8 000 zu messen.

### 2.2.4 Primäre MS-Daten Prozessierung

MALDI-TOF Massenspektrometrie von tryptischen Verdaupeptiden lieferte Massen-Intensitätsspektren ( $m/z$ -I) als Rohdatensätze. Monoisotopische Peptidmassen wurden zu ganzzahligen Werten abgerundet. Deren Intensitäten ( $a_i$ ) wurden nach der Formel ( $I_{rel, a_i} = 10 \times a_i / \sum(a_i)$ ) normalisiert, was zu relativen Signalintensitäten ( $I_{rel, a_i}$ ) führte. Pro Probe wurden 12 redundante Messungen auf unterschiedlichen Spots der Targetplatte aufgegeben. Es wurden exklusiv solche Peptide für die weitere Analyse akzeptiert, die mindestens in 5 von 12 Messungen detektierbar gewesen waren ( $\geq 42\%$ ). Die  $I_{rel, a_i}$ -Werte dieser Peptide wurden gemittelt. Als Resultat wurde eine Liste der ganzzahligen Massen im Bereich von 1–3,5 kDa erhalten inklusiver ihrer jeweiligen, gemittelten relativen Intensitäten, die zu je einem relativen Masse- Intensitätsspektrum führten. Je 3 solcher Spektren wurden für jede einzelne Spezies erstellt, sowohl für Wildtiere wie auch für die unbekanntes Messproben des Skythenkriegers.

Von domestizierten Säugetiere wurden bis zu 81 unterschiedliche Spektren zusammengestellt, um mögliche rassespezifische und/oder andere spektrale Abweichungen von Gerb- oder Färbvorgängen herrührend zu berücksichtigen. Die relativen Masse-Intensitätsspektren der Referenzen wurden zu Identifizierungszwecken zusammen mit den unbekanntem Spektren des Skythenkriegers in eine Daten-Bibliothek übertragen. Dort erfolgten spektrale Ähnlichkeitsberechnungen sowie die Suche nach diagnostischen Massen distinkter Spezies.

2.2.5 Ähnlichkeitsberechnungen gemittelter Daten aus Massenspektren

Spektrale Ähnlichkeiten innerhalb der Proben wurden mittels mathematischer Routinen der MATLAB-Software R2006a Ausgabe I.2.0.322 (The MatWorks Inc., Natwick, MA, USA) berechnet. (MATLAB Befehle sind kursiv widergegeben)

a) Korrelationsdistanz:  $Y = pdist(X, 'correlation')$

$$Y = d_{r,s} = 1 - \frac{(x_r - \bar{x}_r) * (x_s - \bar{x}_s)'}{\sqrt{(x_r - \bar{x}_r)(x_r - \bar{x}_r)' * \sqrt{(x_s - \bar{x}_s)(x_s - \bar{x}_s)'}}$$
 (1)

wobei  $\bar{x}_r = \frac{1}{n} * \sum_j x_{rj}$  und  $\bar{x}_s = \frac{1}{n} * \sum_j x_{sj}$  (2)

Die Formel berechnet die Korrelationsdistanz (CD) zwischen Paaren von Objekten in einer n-mal p-Datenmatrix X. Zeilen von X korrespondieren dabei mit den Beobachtungen; Spalten hingegen mit den Variablen.  $d_{r,s}$  (= Y) ist ein Zeilenvektor der Länge  $m = n(n-1)/2$ , der mit m-Paaren der Beobachtungen in X korrespondiert. Die Dis-

tanzen sind dabei in der Form (1,2), (1,3), ..., (1,n), (2,3), ..., (2,n), ..., ..., (n-1, n) angegeben,

b) Blockform  $B = squareform(Y)$

wobei Y ein Vektor darstellt, der durch die pdist-Funktion erstellt worden ist. Die Darstellung in Blockform konvertiert Y in eine symmetrische Form B, bei der  $B_{i,j}$  der Distanz zwischen dem i-ten und dem j-ten Objekt der Originaldaten X entspricht.

2.2.6 Ergebnistabelle

Die Ergebnistabelle Matrix B beinhaltet die Korrelationsdistanzen (CD) der binären Vergleiche aller Spezies miteinander und reichen von 0 bis 1, wobei 1 für keine Ähnlichkeit steht und 0 für Identität zweier Proben. Ein Datenbündel aus n Objekten resultiert dabei in einer Ergebnistabelle von einer  $m^2$ -Anordnung von CD-Werten. In dieser Form wurde die Ergebnistabelle als Maß der absteigenden spektralen Ähnlichkeiten (Ranking-Prozess) im Rahmen der Identifizierungsprozesse benutzt.

Der Ranking-Prozess nutzte 3 redundante Messungen einer jeden unbekanntem Spezies wie auch zumindest je 3 gespeichert parallele Messungen der Referenz-Tiere. Ergebnisse von Vergleichen zweier Spezies mündeten daher in mindestens 9  $CD_{a \leftrightarrow b}$ -Werten. Bei Distanz-Berechnungen mit nachfolgendem Ranking wurde jeweils der kleinste  $CD_{a \leftrightarrow b}$ -Wert verwendet, dem die höchste spektrale Ähnlichkeit zwischen 2 Spezies entsprach. Diese Vorgabe wurde für alle Vergleiche einer Spezies mit allen anderen mit absteigender spektraler Ähnlichkeit wiederholt. Wurden keine Werte <0,3 innerhalb rezenter Tiere gefunden, so wurden jene als spektral nicht eng verwandt

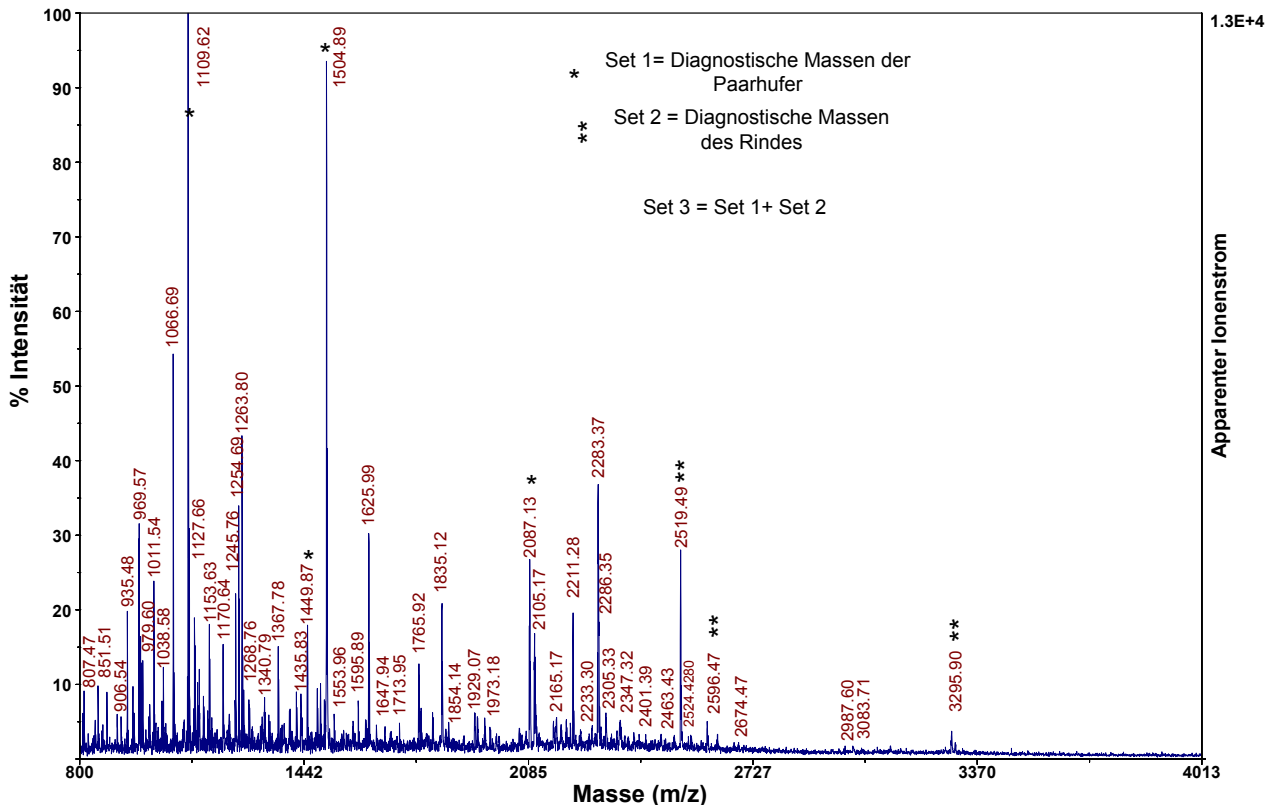


Abb. 1: M/z Massenspektrum der verdauten Skythenkrieger-Probe 4/3. Spezifische Massen für die Ordnung der Paarhufer sind markiert (\*), während (\*\*) markierte spezifische Massen die Spezies Rind repräsentieren.

eingestuft. CD-Werte  $\leq 0,3$  aber  $\geq 0,1$  galten als spektral eng verwandte Tiere, während CD-Werte  $\leq 0,1$  als höchst wahrscheinlich identische Tierarten galten. Im weiteren Verlauf des Identifizierungsprozesses wurden solche als identisch angesehene Tierarten auf das Vorhandensein speziesspezifischer, diagnostischer Masse hin untersucht.

### 2.2.7 Diagnostische Massen

Zusätzlich zu den Vergleichen der Korrelationsdistanzen wurden ihre diagnostischen Massen berücksichtigt um ihre Identität abzusichern. Diagnostische Massen sind speziesspezifische intensive Massensignale, die für mehrere unterschiedliche Zwecke herangezogen wurden. Auf der Ebene der Datenbankerstellung stellen einige intensive Signale charakteristische Peptide bestimmter Ordnungen und oder Familien, sind allerdings nicht speziesspezifisch. Die SIAM-Datenbank untergliedert sich in die Carnivoren-Datenbank ohne Hundartige, in die der Hundartigen, in die Datenbank der Paarhufer und in jene der heterogenen, Säugetiere, die aus weiteren zoologischen Ordnungen stammen.

Auf der Ebene der Speziesidentifikation dienten speziesspezifische diagnostische Massen zur letztendlichen Unterscheidung sehr eng verwandter zoologischer Arten und somit der Identifizierung der Proben des Skythenkriegers. Dabei konnten die Anwesenheit, wie auch das Fehlen bestimmter Signale als wesentliche Information zur letztendlichen Speziesidentifizierung herangezogen werden. Idealerweise waren solche diagnostischen Massen als Marker für eine positive Identifizierung einer Spezies bzw. unbekannter Probe vorhanden und fehlen gleichzeitig bei auszuschließenden Spezies bzw. Proben. In solchen Fällen handelte es sich um eine aktive Bestätigung. Aber auch Fälle von Ausschlüssen nicht infrage kommender Spezies konnten bei Identifizierungen weiterhelfen. Mehrere kombinierte Bestätigungen und Ausschlüsse von nah verwandten Spezies führten dabei zu eindeutigen Identifizierungen der antiken Proben.

### 2.2.8 Molekularer Zustand der archäologischen Proben

Es ist bekannt, dass Alterungserscheinungen, vornehmlich durch reaktive Sauerstoff-komponenten (ROS = reactive oxygen species), bei archäologischen Proben auftreten können, bei denen sowohl Proteinketten als auch deren Seitenkettenstrukturen oxidiert und zumindest teilweise gespalten werden. Infolge davon stehen bei der SIAM-Methode weit weniger tryptische Spaltstellen in den angegriffenen Proteinen zur Verfügung als bei rezenten Proben, was letztendlich zu Massenspektren mit weniger und veränderten Spaltpeptidmustern führt. Mehrere Peptide in diesen veränderten Spaltmustern besitzen dann keine Entsprechungen bei rezenten Referenzen. Dadurch leidet die Genauigkeit der Identifizierungen.

Aufgrund der Lagerung im Eis/Permafrost zeichnen sich auf molekularer Ebene die untersuchten Proben des Skythenkriegers aber durch einen erstaunlich guten Erhaltungsgrad aus. Die Anzahl und die Massen der tryptischen Spaltpeptide der archäologischen Proben unterscheiden sich nicht oder kaum merklich von denen

von rezenten Referenzproben. Dies bedeutet, dass Zerfalls- und Oxidationsprozesse, zumindest bei den strukturellen Proteinen der Haare, nicht ausgeprägt sind. Die massenspektrometrischen Untersuchungen können somit mit hoher Genauigkeit durchgeführt werden.

### 2.2.9 Datenbanken

Folgende vier SIAM-Datenbanken wurden für die Identifizierung der Skythenproben verwendet:

1. **Die Paarhufer Datenbank (DB1):** mit 188 Einträgen: Schaf (27 Rassen), Mufflon, Ziege (inkl. Kaschmir- und Mohairziege), Steinbock, Gemse, Baktrisches Kamel, Alpaca, Rind, Grunzochse, Moschusochse, Reh, Tibetantilope, Rothirsch, Rentier, Springbock, Eurasischer Elch, Hausschwein und Wildschwein.
2. **Die Fleischfresser-Datenbank I (nicht hundeähnlich) (DB2):** mit 204 Einträgen: Sattelrobbe, Klappmütze, Ringelrobbe, Grönlandrobbe, Iltis (domestiziert, wild, gefärbt, weiß), Nordamerikanischer Dachs, Nerz, Vielfraß, Hermelin, Wiesel, Altaiwiesel, Sibirisches Wiesel, Baumarder, Steinmarder, Fischmarder, Zobel, Kanadischer Zobel, Europäischer Fischotter, Stinktier, Bengalkatze, Puma, Leopard, Persischer Löwe, Tiger, Sibirischer Tiger, Gepard, Hauskatze (mehrere einheimische Rassen, Burmese, Perser, Cornish Rex, Perser cross breed), Norwegische Waldkatze, Maincoon, Europäische Wildkatze, Sandkatze, Pallaskatze, Ozelot, Geoffroy's Katze, Eurasischer Luchs, Kanadischer Luchs, Luchskatze, Zibetkatze, Eisbär, Schwarzbär, Bassarisk und Waschbär.
3. **Die Fleischfresser-Datenbank II (Hunde und hundeähnlich) (DB3):** mit 91 Einträgen: Haushund (mehrere Rassen), Kojote, Rothund, Wolf (mehrere Arten), Marderhund, Provinzialfuchs, Argentinischer Graufuchs, Feuerlandfuchs, Grisfuchs, Kanadischer Rotfuchs, Europäischer Rotfuchs, Weißfuchs (mit Silberfuchs und Blaufuchs), Arktisfuchs, Australischer Rotfuchs und Kitfuchs.
4. **Die „Exoten“-Datenbank (DB4)** mit 110 Einträgen: Pferd, Islandpony, Nutria, Stachelschwein, Viscacha, Chinchilla, Biber, Meerschwein, Hamster, Bisamratte, Waldlemming, Amerikanisches Opossum, Mensch, Gorilla, Colobus, Europäisches Kaninchen, Feldhase, Alpenschneehase, Himalaya-Pfeiffhase, Graues Riesenmäntel, Wallaby, Graues Känguru, Neuseeländisches Opossum, Hyrax, Maulwurf, Eurasisches Eichhörnchen, Ziesel, Burunduk, Nordamerikanisches Eichhörnchen, Feh, Sibirisches Flughörnchen, Alpenmurmeltier und Steppenmurmeltier.

Datenbankeinträge mit Korrelationsdistanzen größer als 0.4 gegenüber den zu identifizierenden Proben werden mit Sicherheit als nicht identisch ausgeschlossen. Alle Einträge der DB3 konnten auf diesem Wege bei allen Skythenproben ausgeschlossen werden. Keine der vorliegenden archäologischen Proben stammte von hundeähnlichen Spezies ab.

Einträge von DB 1 korrelierten mit 1/1, 4/1, 4/2, 5/1, 6/2 und 13/1. Diese Proben stammen aus der Ordnung der Artiodactyla, während 4/4, 4/6 und 4/8 mit Einträgen



der DB2 korrelierten, also aus den „nicht-hundeähnlichen“ Fleischfressern herstammten. Die Proben 4/7, 9/1 und 9/2 korrelierten mit Einträgen der DB4.

Die binären Ähnlichkeitsbestimmungen der berechneten Durchschnitts-Spektren aus den Skythen-Proben untereinander und im Vergleich zu den Einträgen der brauchbaren Datenbanken ergaben eindeutige Identifizierungen. Diese Identifizierungen wurden mittels diagnostischer Massen, spezifische Peptidsignale, die nur bei den Proben und wenigen Referenzen in unterschiedlicher Anzahl und Kombinationen vorkommen, bestätigt. Es wurden Sets von diagnostischen Massen erstellt, welche eindeutig für eine Spezies kodieren. Nur wenn auch die Ergebnisse der diagnostischen Sets zu den gleichen Spezies führten wie die spektrale Ähnlichkeitsbestimmung, wurde diese als identifiziert erachtet.

### 2.3 Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC)

Die Farbstoffe in den teilweise gefärbten Haaren wurden mittels HPLC analysiert. Es wurde das LiChroGraph-System der Firma Merck, Darmstadt benutzt, das aus einem Injektionssystem Typ 7125 (Rheodyn), einem Dioden-Array-Detektor L-4500 für den UV/VIS-Bereich, einer Gradientenpumpe (intelligenten Pumpe), Modell L-6200 A (MERCK-Hitachi) sowie einem Datenauswertesystem MEM 8057-200 bestand.

Die Detektionswellenlänge war 250 nm. Für die zur Bestimmung der organischen Farbpigmente angewendeten Umkehrphasen (Reversed Phase)-Chromatographie wurde eine Eurospher 100-C8-Säule der Firma Knauer, Berlin, der Größe 125 × 4 mm benutzt. Als Fließmittel diente ein Gemisch aus (A) verdünnter Phosphorsäure (pH 2,8) und (B) Acetonitril (70:30). Der Gradient wurde innerhalb von 10 min auf 20:80 verändert und für weitere 10 min beibehalten. Die Flussrate lag bei 0,5 ml/min.

## 3 Ergebnisse

### 3.1 Mikroskopische Verfahren

Mittels mikroskopischer Untersuchungen konnten die meisten Proben einer Auswahl von Tieren zugeordnet werden. Für die Auswertung der Bilder an REM und

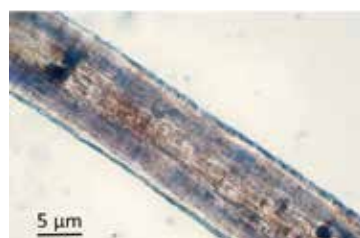
LM wurde der Schlüssel der Autoren Petraco und Kubic 2003 verwendet. Dort wo keine Aufnahmen eigener Referenzmaterialien vorhanden waren, wurden Bilder der Datenbank <https://alaskafurid.wordpress.com> verwendet. Die zu untersuchenden Haare waren nur zum Teil so erhalten, dass eine Zuordnung der Haarregion erfolgen konnte. Ergebnisse in denen die Haare keiner Region zuzuordnen waren, können dementsprechend lediglich eine Einschätzung darstellen. Weiterhin ähneln einige lichtmikroskopischen Aufnahmen nicht den Referenzbildern, entscheidend für das Ergebnis war dann die rasterelektronische Aufnahme. Die Ergebnisse sind entsprechend der Probennummern aufbereitet.

#### Probe 1/1 – Kopfbedeckung

Die Haare der Probe 1/1 waren insgesamt in einem sehr guten Zustand, nur leicht verdreckt, mit einer gut lesbaren Haarstruktur. Die Haarregion konnte nicht bestimmt werden. Die Haardicke lag im Schnitt bei 10 µm. Die Untersuchung am REM zeigt eine mosaikartige Struktur der Cuticula (Abb. 2c). In Verbindung mit der lichtmikroskopischen Betrachtung der Medulla konnten die Tiere Bär, Kamel, Rind, Hund, Pferd, Schaf eingegrenzt werden. Die amorphe Medulla enthält Pigmenteinlagerungen, des Weiteren finden sich Hinweise auf eine Gitterstruktur (Abb. 2a). Die hinzugezogene Referenzprobe Schaf *Ovis vignei* ergab in der lichtmikroskopischen Betrachtung keine direkte Übereinstimmung (Abb. 2b). Es bestehen Ähnlichkeiten der Probe 1/1 zu den Proben 4/1, 4/5, 6/2, 15/1 und 15/2.

#### Probe 4/1 – Mantel, blaue Fasern

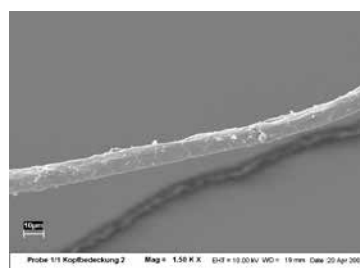
Die Haare der Probe 4/1 waren insgesamt in einem sehr guten Zustand, blau gefärbt und leicht verdreckt, mit einer gut lesbaren Haarstruktur. Die Haarregion konnte nicht bestimmt werden. Die Haardicke lag zwischen 10 und 40 µm. Die rasterelektronischen Aufnahmen der Probe 4/1 zeigen eine mosaikartige Struktur der Cuticula (Abb. 3c). In Verbindung mit der lichtmikroskopischen Betrachtung der Medulla konnten die Tiere Bär, Kamel, Rind, Hund, Pferd, Schaf eingegrenzt werden



**a) Probe 1/1**  
LM, 50×, amorph Haarregion: n.b.



**b) Referenz**  
Schaf *Ovis vignei*,  
Deckhaar,  
LM, 20×, große Gitter  
Haarregion: n.b.



**c) Probe 1/1**  
REM, 1.5 K×, mosaic  
Haarregion: n.b.



**d) Referenz**  
Schaf *Ovis dalli*,  
Deckhaar,  
ASM, 100×, mosaic  
Quelle: <https://alaskafurid.wordpress.com>  
Haarregion: n.b.

**Abb. 2:** Charakteristische Merkmale der Probe 1/1 Kopfbedeckung, lose Filzfragmente und deren Referenzen

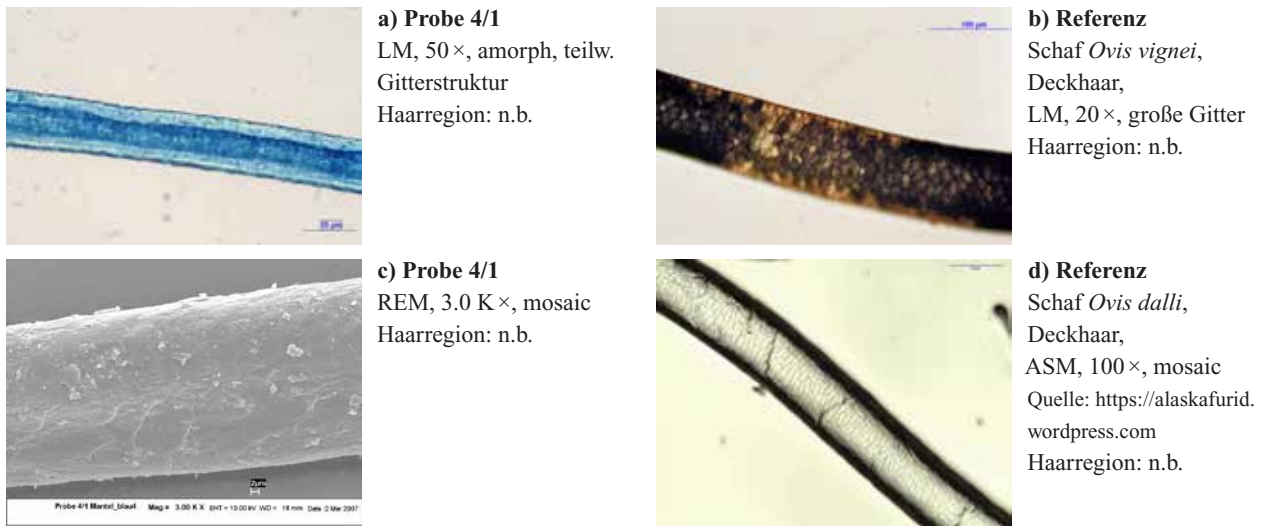


Abb. 3: Charakteristische Merkmale der Probe 4/1 Mantel, blau gefärbte Fasern und Referenzen

(Abb. 3a). Die amorphe Medulla der originalen Probe zeigt Spuren einer Gitterstruktur, die den großen Gittern der Referenz ähneln. Die hinzugezogene Referenzprobe Schaf *Ovis vignei* ergab in der lichtmikroskopischen Betrachtung keine direkte Übereinstimmung (Abb. 3b). Es bestehen Ähnlichkeiten zu den Proben 1/1, 4/5, 6/2, 15/1 und 15/2.

#### Probe 4/2 – Mantel, rote Fasern

Probe 4/2 war rot gefärbt und befand sich insgesamt in einem sehr guten Zustand. Die Probe wurde nicht mittels REM untersucht. Die lichtmikroskopische Betrachtung zeigt eine Medulla, die im Vergleich zu den vorherigen beiden Proben einen schmalen Durchmesser aufweist (narrow lattice, Abb. 4a). Mit diesem Merkmal können die Tiere Bär, Kamel, Rind, Hund, Pferd, Schaf, Waschbär, Luchs und Schwein eingrenzt werden. Der Vergleich mit der Referenzprobe eines Rindes (Quelle: <https://alaskafurid.wordpress.com>) ergab eine mäßige Übereinstimmung mit der Probe (Abb. 4b).

#### Probe 4/3 – Mantel, unterer Randbereich

Die Zupfproben vom unteren Randbereich des Mantels waren in einem sehr guten Zustand, mit einer gut lesbaren Haarstruktur. Es fanden sich distale, mediale und basale Haarregionen. Die Haardicke lag zwischen 10 und 40 µm. Die lichtmikroskopische Betrachtung der Medulla ergab keine eindeutige Zuordnung ihrer Strukturform (Abb. 5a). Es konnten regelmäßige Pigmenteinlagerungen quer zur Faser diagnostiziert werden vergleichbar

mit den Proben 4/7 und 9/1. Aufgrund der Ähnlichkeit dieser Proben wurden die Treffer auf die Tiere Hase, Kaninchen und Eichhörnchen eingegrenzt. Die rasterelektronischen Aufnahmen zeigen eine Cuticulastruktur, die sich von gezackten Winkeln (chevron) im basalen Bereich (Abb. 5c und d) bis mosaikartig im mittleren Haarbereich (Abb. 5e und f) verändert. Allein aufgrund des lichtmikroskopischen Vergleichs ist keine Zuordnung möglich, jedoch aufgrund der rasterelektronischen Bilder wird der Treffer Eichhörnchen eingegrenzt.

#### Probe 4/4 – Mantel

Die Haare der Probe 4/4 waren in einem sehr guten Zustand, mit einer gut lesbaren Haarstruktur. Es fanden sich distale und basale Haarregionen. Die Haardicke lag bei 10 µm. Die lichtmikroskopische Betrachtung weist eine klare Gitterstruktur der Medulla auf (Abb. 6a), ansonsten weicht das Bild aufgrund der Haarregion von dem Erscheinungsbild der Referenz ab. Anders verhält es sich bei den rasterelektronischen Aufnahmen, hier ist deutlich eine rautenförmige (diamond petal) Cuticula zu sehen (Abb. 6c). Damit weisen die Bilder eine sehr große Übereinstimmung mit der Referenz Zobel auf. Als Treffer konnten aufgrund dieser Ergebnisse hin die Tiere Fuchs, Nerz, Marder, Otter und Zobel eingegrenzt werden.

#### Probe 4/5 – Mantel, blaue Fasern

Die blau gefärbten Haare der Probe 4/5 waren insgesamt in einem sehr guten Zustand. Die Haarregion wurde nicht bestimmt. Die Haardicke lag bei 25 µm. In der lichtmi-

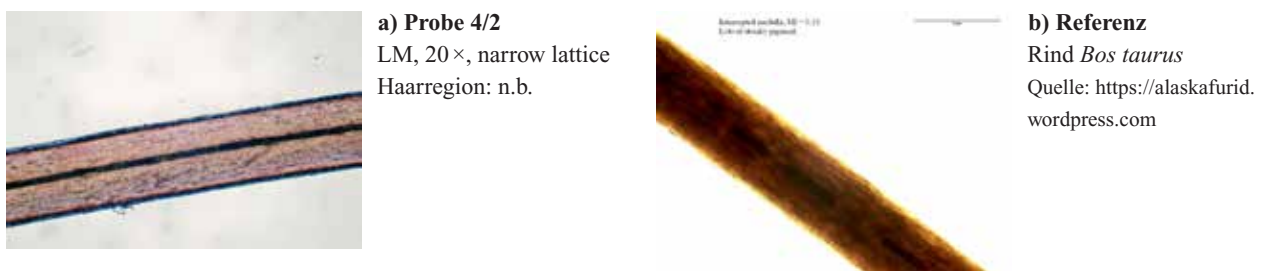
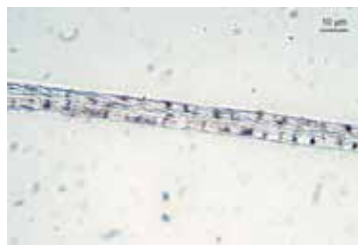


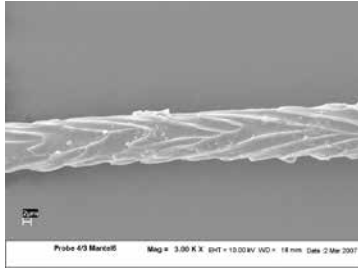
Abb. 4: Charakteristische Merkmale der Probe 4/2 Mantel, rote Fasern und Referenz



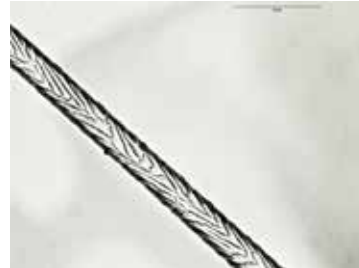
**a) Probe 4/3**  
LM, 50×  
Haarregion: vermutlich distal



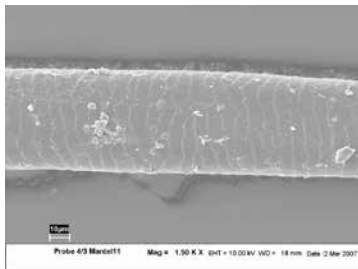
**b) Referenz**  
Eichhörnchen *Sciurus vulgaris* -  
LM, 20×, große Gitter Haarregion: n.b.



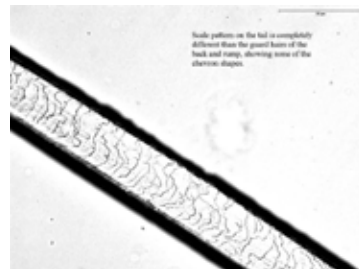
**c) Probe 4/3**  
REM, 3.0 K×, chevron  
Haarregion: vermutlich basal



**d) Referenz**  
Familie *Sciuridae* -  
LM, 400×, chevron  
Quelle: <https://alaskafurid.wordpress.com>  
Haarregion: basal



**e) Probe 4/3**  
REM, 1.5 K×, mosaik  
Haarregion: vermutlich medial/ distal



**f) Referenz**  
*Sciuridae* -  
LM, 400×, imbricated mosaic  
Quelle: <https://alaskafurid.wordpress.com>  
Haarregion: distal

**Abb. 5:** Charakteristische Merkmale der Probe 4/3 Mantel, unterer Randbereich und Referenzen

kroskopischen Aufnahme ist anhand der eingelagerten Blaupigmente eine Gitterstruktur zu erahnen (Abb. 7a), die ansonsten amorphe Struktur der Medulla grenzt die Tiere Bär, Kamel, Rind, Hund, Pferd, Schaf ein. Die Untersuchung mittels ESEM ergab, dass es sich bei der Cuticula um eine mosaikartige Struktur handelt (Abb. 7c). Es bestehen Ähnlichkeiten zu den Proben 1/1, 4/1, 6/2, 15/1 und 15/2.

#### Probe 4/6 – Mantel, linker Ärmel

Die Haare der Probe 4/6 waren insgesamt in einem sehr guten Zustand. Es fanden sich mediale und basale Haarregionen. Die Haardicke lag zwischen 20 und 55 µm.

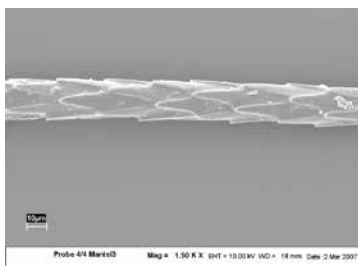
Aufgrund einer im Lichtmikroskop deutlich erkennbaren großen Gitterstruktur der Medulla konnten die Tiere Fuchs, Nerz, Marder, Otter und Zobel eingegrenzt werden (Abb. 8a). Die Untersuchung mittels ESEM zeigte, dass sich die Cuticulastruktur von rautenförmig (diamond petal) im basalen Bereich bis dachziegelmosaikartig (mosaic-imbricated) im mittleren bis distalen Bereich der Haare verändert (Abb. 8c und d). Alle Aufnahmen der Probe weisen eine hohe Übereinstimmung mit der Referenz Zobel auf (Abb. 8b, d und f).



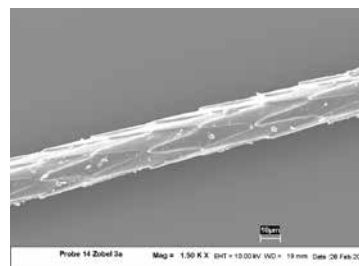
**a) Probe 4/4**  
LM, 50×,  
Gitterstruktur  
Haarregion: vermutlich distal



**b) Referenz Zobel**  
*martes zibellina* -  
LM, 20×, große Gitter  
Haarregion: basal

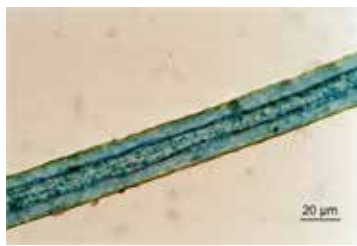


**c) Probe 4/4**  
REM, 1.5 K×, diamond petal  
Haarregion: basal

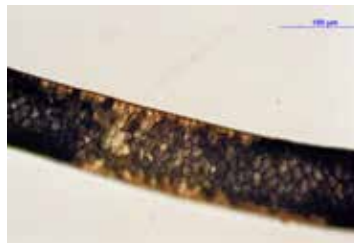


**d) Referenz Zobel**  
*martes zibellina* -  
REM, 1.5 K×,  
diamond petal  
Haarregion: basal

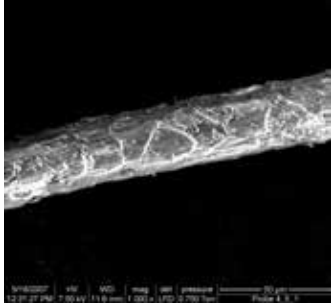
**Abb. 6:** Charakteristische Merkmale der Probe 4/4 Mantel und Referenzen



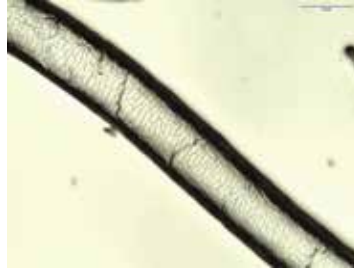
**a) Probe 4/5**  
LM, 50×, amorph  
Haarregion: n.b.



**b) Referenz**  
Schaf *Ovis vignei*,  
Deckhaar,  
LM, 20×, große  
Gitter  
Haarregion: n.b.



**c) Probe 4/5**  
ESEM, 1.0 K×,  
mosaic  
Haarregion: n.b.



**d) Referenz**  
Schaf *Ovis dalli*,  
Deckhaar,  
ASM, 100×, mosaic  
Quelle: <https://alaskafurid.wordpress.com>  
Haarregion: n.b.

**Abb. 7:** Charakteristische Merkmale der Probe 4/5 Mantel, blaue Fasern und Referenzen

### Probe 4/6 – Mantel, linker Ärmel

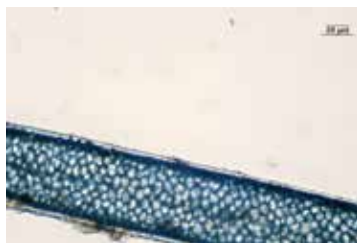
Die Haare der Probe 4/6 waren insgesamt in einem sehr guten Zustand. Es fanden sich mediale und basale Haarregionen. Die Haardicke lag zwischen 20 und 55 µm.

Aufgrund einer im Lichtmikroskop deutlich erkennbaren großen Gitterstruktur der Medulla konnten die Tiere Fuchs, Nerz, Marder, Otter und Zobel eingegrenzt werden (Abb. 8a). Die Untersuchung mittels ESEM zeigte, dass sich die Cuticulastruktur von rautenförmig (diamond petal) im basalen Bereich bis dachziegel-mo-

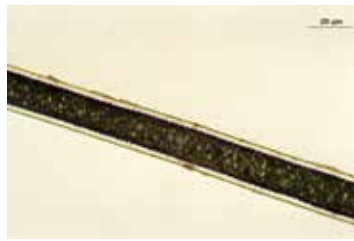
saikartig (mosaic-imbricated) im mittleren bis distalen Bereich der Haare verändert (Abb. 8c und d). Alle Aufnahmen der Probe weisen eine hohe Übereinstimmung mit der Referenz Zobel auf (Abb. 8b, d und f).

### Probe 4/7 – Mantel, Kragen Oberseite

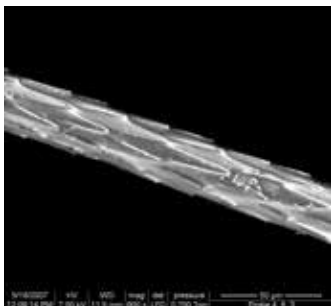
Die Haare an der Oberseite des Mantelkragens waren in einem sehr guten Zustand. Es fanden sich mediale und basale Haarregionen. Die Haardicke lag zwischen 10 und 50 µm.



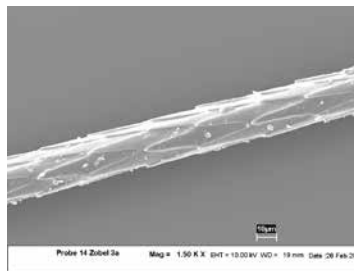
**a) Probe 4/6**  
LM, 20×  
Haarregion: basal



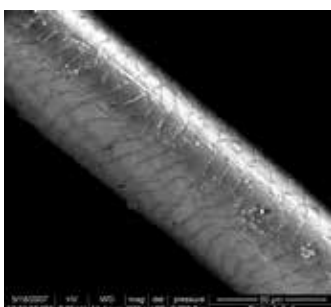
**b) Referenz Zobel**  
*martes zibellina* -  
LM, 20×, große  
Gitter  
Haarregion: basal



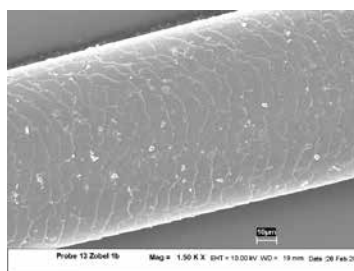
**c) Probe 4/6**  
ESEM, 900×, dia-  
mond petal  
Haarregion: basal



**d) Referenz Zobel**  
*martes zibellina* -  
REM, 1.5 K×,  
diamond petal  
Haarregion: basal

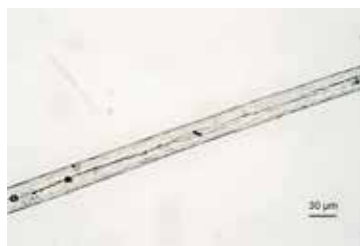


**e) Probe 4/6**  
ESEM, 977×, mosaic  
imbricated  
Haarregion: medial/  
distal



**f) Referenz Zobel**  
*martes zibellina* -  
REM, 1.5 K×,  
mosaic imbricated  
Haarregion: medial

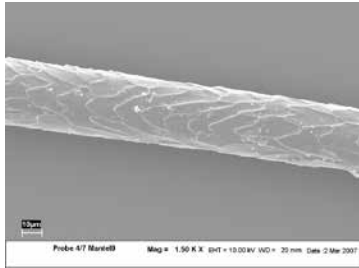
**Abb. 8:** Charakteristische Merkmale der Probe 4/6 Mantel, linker Ärmel und Referenzen



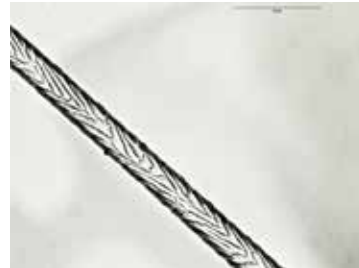
**a) Probe 4/7**  
LM, 10×  
Haarregion: basal



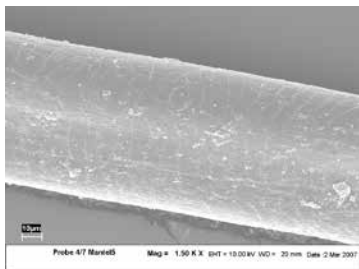
**b) Referenz**  
Eichhörnchen *Sciurus vulgaris* –  
LM, 20×, aeriform  
lattice  
Haarregion: n.b.



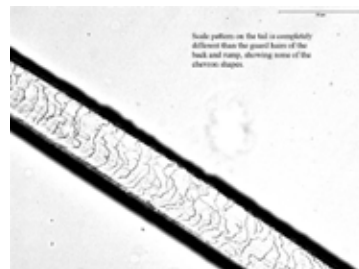
**c) Probe 4/7**  
REM, 1.5 K×, chevron  
Haarregion: basal



**d) Referenz** Familie  
*Sciuridae* –  
LM, 400×, chevron  
Quelle: <https://alaskafurid.wordpress.com>  
Haarregion: basal



**e) Probe 4/7**  
REM, 1.5 K×, mosaik  
Haarregion: vermut-  
lich medial/distal



**f) Referenz**  
*Sciuridae* –  
LM, 400×, imbrica-  
ted mosaic  
Quelle: <https://alaskafurid.wordpress.com>  
Haarregion: distal

**Abb. 9:** Charakteristische Merkmale der Probe 4/7 Mantel, Kragen Oberseite und Referenzen

Im Lichtmikroskop ist eine amorphe Medulla mit schwacher Gitterstruktur erkennbar (Abb. 9a). Vergleichbar mit den Proben 4/3 und 9/1 konnten regelmäßige Pigmenteinlagerungen quer zur Faser diagnostiziert werden. Die Aufnahmen der Probe weisen keine Übereinstimmung mit den Referenzbildern des Eichhörnchens auf. Die Untersuchung mittels REM zeigte, dass sich die Cuticulastruktur von gezackten Winkeln (chevron) im basalen Bereich bis wellenförmig-mosaikartig im mittleren bis distalen Bereich der Haare verändert (Abb. 9c und e). Aufgrund dieser Merkmale wurden die Treffer Hase, Kaninchen und Eichhörnchen eingegrenzt.

#### Probe 4/8 – Mantel, Kragen Unterseite

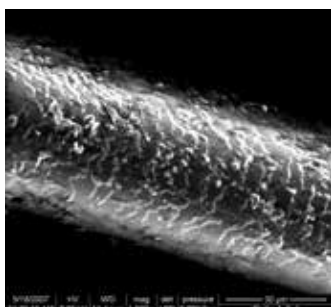
Die Haare an der Unterseite des Mantelkragens waren in einem sehr guten Zustand. Es fanden sich distale und basale Haarregionen. Die Haardicke lag zwischen 10 und 50 µm. Probe 4/8 weist eine hohe Ähnlichkeit mit der Probe 4/6 auf. Vergleichbar ist im Lichtmikroskop eine Medulla mit großer Gitterstruktur deutlich erkennbar (Abb. 10a). Auch hier wurden die Tiere Fuchs, Nerz, Marder, Otter und Zobel eingegrenzt. Die Aufnahmen der Probe weisen eine hohe Übereinstimmung mit der Referenz Zobel auf (Abb. 10b und d). Ebenfalls zeigte die Untersuchung mittels ESEM, eine Übereinstimmung



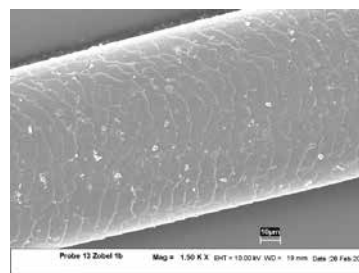
**a) Probe 4/8**  
LM, 20×, große Gitter  
Haarregion: n.b.



**b) Referenz** Zobel  
*Martes zibellina* –  
LM, 20×, große  
Gitter  
Haarregion: n.b.



**c) Probe 4/8**  
ESEM, 1.5 K×, imbricated mosaic  
Haarregion: medial/  
distal



**d) Referenz** Zobel  
*Martes zibellina* –  
REM, 1.5 K×,  
imbricated mosaic  
Haarregion: medial/  
distal

**Abb. 10:** Charakteristische Merkmale der Probe 4/8 Mantel, Kragen Unterseite und Referenzen

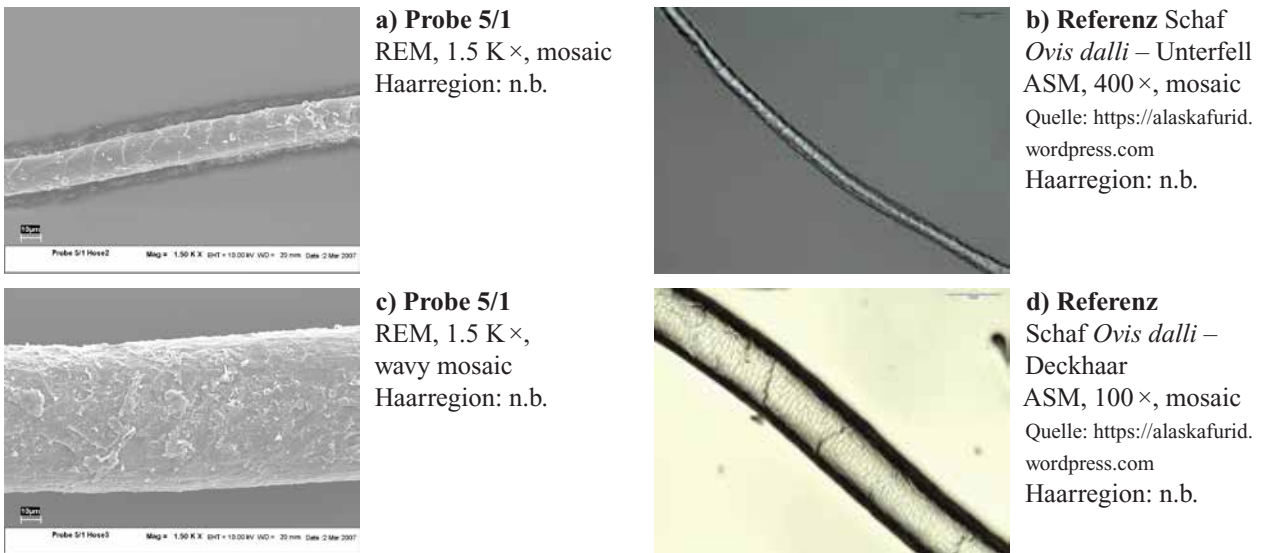


Abb. 11: Charakteristische Merkmale der Probe 5/1 Hose, linkes Bein Innenseite und Referenzen

der dachziegel-mosaikartigen Cuticulastruktur im mittleren bis distalen Bereich der Haare (Abb. 10c).

#### Probe 5/1 – Hose, linkes Bein Innenseite

Diese Probe ist eine der wenigen der hier untersuchten Proben, die Schäden wie gebrochene und aufgespaltene Fasern aufweist. Die meisten anderen Proben befinden sich in einem sehr guten Erhaltungszustand. Trotz dieser Schäden gab es gut erhaltene Bereiche, an denen Untersuchungen durchgeführt werden konnten. Es fanden sich distale und basale Haarregionen. Die Haardicke lag zwischen 20 und 60  $\mu\text{m}$ . Die Struktur der Cuticula ist im REM wellenförmig-mosaikartig erkennbar (Abb. 11a und c). Aufgrund der Cuticula Merkmale konnten die Tiere Antilope, Bär, Karibu, Kamel, Katze, Hund, Rind, Pferd, Schaf, u.a. eingegrenzt werden. Es wurden keine Untersuchungen am Lichtmikroskop durchgeführt.

#### Probe 6/2 – Stiefel, Filz

Die Haare des Stiefels waren leicht verdreckt doch in einem guten Zustand. Die Haarregionen wurden nicht

bestimmt, die Haardicke lag bei 10  $\mu\text{m}$ . Die rasterelektronischen Aufnahmen zeigen eine mosaikartige Struktur der Cuticula (Abb. 12c). In Verbindung mit der lichtmikroskopischen Betrachtung der Medulla, die als amorph eingestuft wurde (Abb. 8a), wurden die Tiere Bär, Kamel, Rind, Hund, Pferd, Schaf eingegrenzt. Es bestehen Ähnlichkeiten zu den Proben 1/1, 4/1, 4/5, 15/1 und 15/2.

#### Probe 9/1 – Kammhülle, Außenseite

Die Haare an der Kammhülle waren in einem guten Zustand, trotzdem waren die Haarregionen nicht eindeutig zuzuordnen. Die Haardicke lag zwischen 8 und 40  $\mu\text{m}$ . Im Lichtmikroskop war eine amorphe Medulla mit Gitterstruktur erkennbar (Abb. 13a), ähnlich wie in den Proben 4/3 und 4/7 wurden regelmäßige Pigmenteinlagerungen quer zur Faser diagnostiziert. Aufgrund der Ähnlichkeit dieser Proben wurden die Treffer auf die Tiere Hase, Kaninchen und Eichhörnchen eingegrenzt. Die Untersuchung mittels REM zeigte, dass sich die Cuticulastruktur von gezackten Winkeln (chevron) bis wellenförmig-mosaikartig verändert (Abb. 13c und e) und bestätigte damit die Eingrenzung.

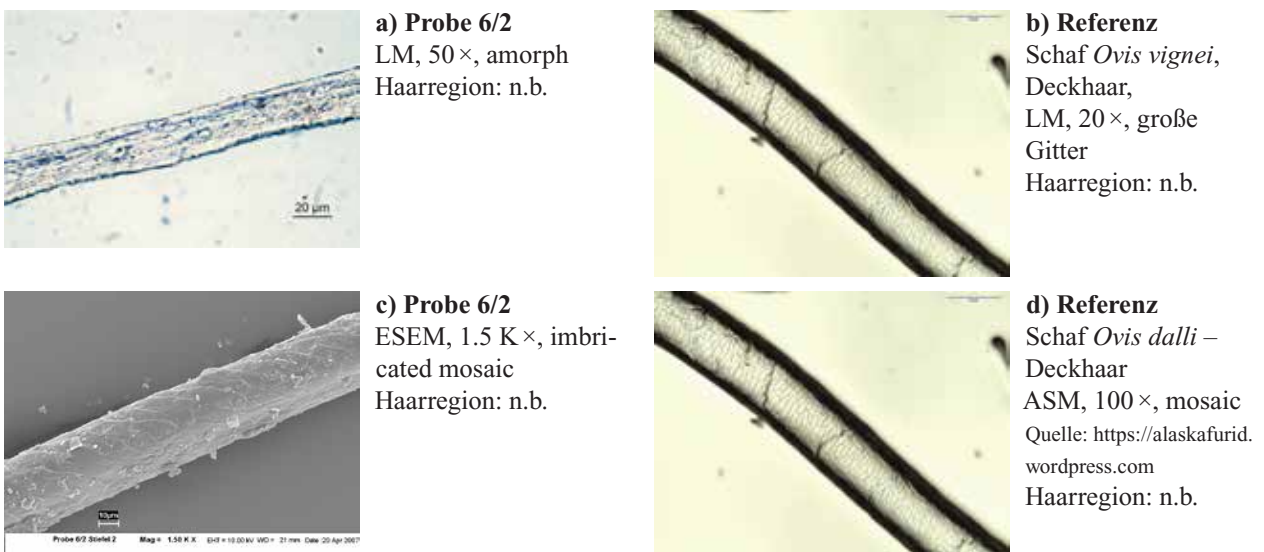


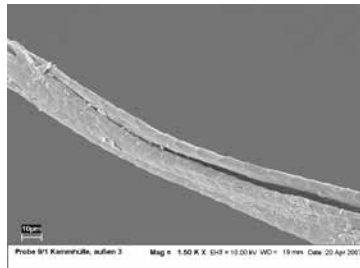
Abb. 12: Charakteristische Merkmale der Probe 6/2 Stiefel, Filz und Referenzen



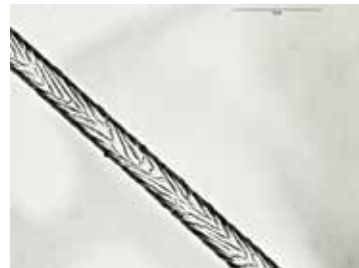
**a) Probe 9/1**  
LM, 50 ×, amorph  
Haarregion: n.b.



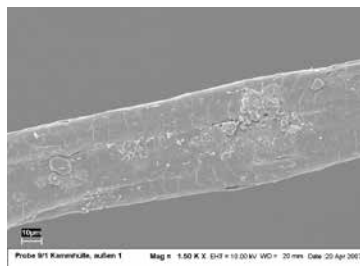
**b) Referenz**  
Eichhörnchen *Sciurus vulgaris* -  
LM, 20 ×, aeriform  
lattice  
Haarregion: n.b.



**c) Probe 9/1**  
REM, 1.5 K ×, chevron  
Haarregion: n.b.



**d) Referenz** Familie  
*Sciuridae* -  
LM, 400 ×, chevron  
Quelle: <https://alaskafurid.wordpress.com>  
Haarregion: basal



**e) Probe 9/1**  
REM, 1.5 K ×, mosaic  
Haarregion: n.b.



**f) Referenz**  
*Sciuridae* -  
LM, 400 ×, imbrica-  
ted mosaic  
Quelle: <https://alaskafurid.wordpress.com>  
Haarregion: distal

**Abb. 13:** Charakteristische Merkmale der Probe 9/1 Kammhülle, Außenseite und Referenzen

#### Probe 9/2 – Kammhülle, Innenseite

Die Haare an der Innenseite der Kammhülle befanden sich in einem sehr guten Zustand. Es konnten basale Haarregionen zugeordnet werden. Die Haardicke lag zwischen 10 und 20 µm. Im Lichtmikroskop ist eine Medulla mit großen Gittern erkennbar (Abb. 14a). Aufgrund der Ähnlichkeit wurden die Treffer auf die Tiere Hase, Kaninchen und Eichhörnchen eingegrenzt. Die Untersuchung im REM zeigte im basalen Bereich eine Cuticulastruktur von gezackten Winkeln (chevron, Abb. 14c). Diese Probe weist in allen Bereichen eine sehr hohe Übereinstimmung mit der Referenz Eichhörnchen auf (Abb. 14b und d).

#### Probe 13/1 – Köcher

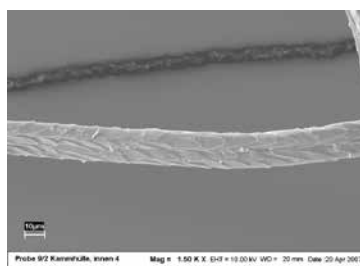
Die Haarproben vom Köcher sind teilweise zerstört und weisen hyphenähnliche Bänder an der Cuticula auf. Die Haardicke lag bei 50 µm. Im REM wurden intakte Bereiche in Nähe der Haarwurzel (basal) betrachtet in denen eine eindeutig mosaikartige Struktur der Cuticula nachgewiesen werden kann (Abb. 15c). Im Lichtmikroskop ist eine Medulla mit großen Gittern erkennbar (Abb. 15a). Aufgrund dieser Merkmale wurden die Treffer auf die Tiere Antilope, Karibu, Hirsch und Elch eingegrenzt. Die Probe weist eine sehr hohe Übereinstimmung mit den Referenzen Reh und Elch auf.



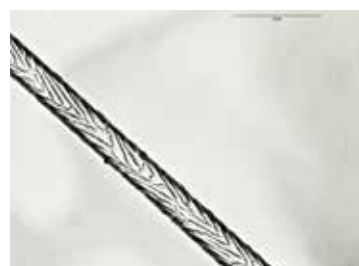
**a) Probe 9/2**  
LM, 20 ×, große Gitter  
Haarregion: n.b.



**b) Referenz** Eich-  
hörnchen *Sciurus vulgaris* -  
LM, 20 ×, große  
Gitter

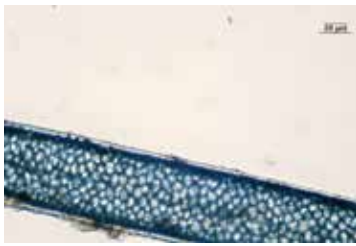


**c) Probe 9/2**  
REM, 1.5 K ×, chevron  
Haarregion: basal

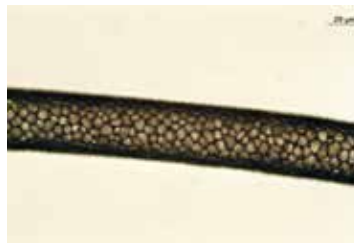


**d) Referenz** Familie  
*Sciuridae* -  
LM, 400 ×,  
chevron  
Quelle: <https://alaskafurid.wordpress.com>

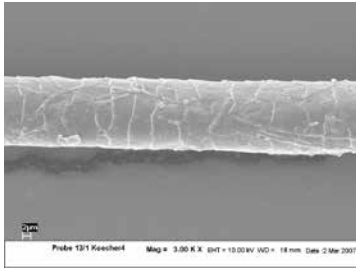
**Abb. 14:** Charakteristische Merkmale der Probe 9/2 Kammhülle, Innenseite und Referenzen



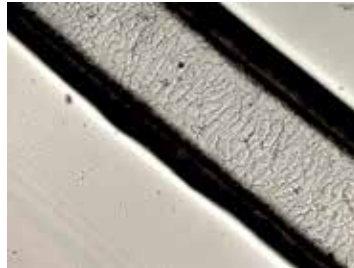
**a) Probe 13/1**  
LM, 20×, große Gitter  
Haarregion: basal



**b) Referenz Reh**  
*Capreolus* -  
LM, 20×, große  
Gitter  
Haarregion: n.b.



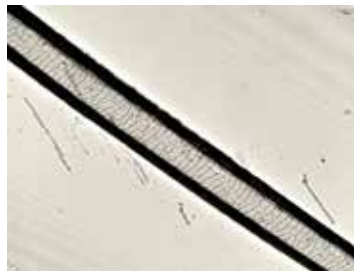
**c) Probe 13/1**  
REM, 3.0 K×, mosaic  
Haarregion: basal



**d) Referenz Elch**  
*Cervus elaphus* -  
LM, 200×,  
mosaic  
Quelle: <https://alaskafurid.wordpress.com>  
Haarregion: n.b.



**e) Referenz Rind** *Bos taurus*  
LM, 400×  
Quelle: <https://alaskafurid.wordpress.com>



**f) Referenz Bos** *taurus* -  
LM, 400×,  
mosaic  
Quelle: <https://alaskafurid.wordpress.com>

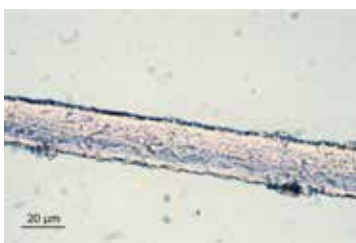
**Abb. 15:** Charakteristische Merkmale der Probe 13/1 Köcher und Referenzen

**Probe 15/1 – Köcherhaube, rote Troddeln**

Die roten Haarproben der Köcherhaube zeigten in den rasterelektronischen Aufnahmen eine oberflächige Korrosion der Cuticula. Die Haarregion konnte nicht zugeordnet werden, die Haardicke betrug 20 µm. Im Fall der lichtmikroskopischen Betrachtung war eine eindeutige Zuordnung der Medulla schwierig, am ehesten schien es sich um eine amorphe Struktur zu handeln, Gitterstrukturen konnten nicht eindeutig nachgewiesen werden (Abb. 16a). Trotz Beeinträchtigung der Oberflächenstruktur war im REM eine mosaikartige Struktur der Cuticula erkennbar (Abb. 16c). Damit konnten die Tiere Bär, Kamel, Rind, Hund, Pferd, Schaf eingegrenzt werden. Es bestehen Ähnlichkeiten zu den Proben 1/1, 4/1, 4/5, 6/2 und 15/2.

**Probe 15/2 – Köcherhaube, gelbe Troddeln**

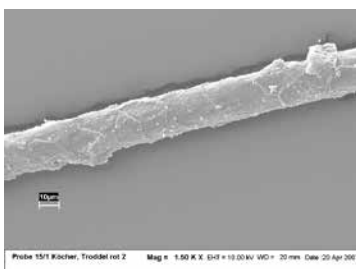
Die gelb gefärbten Fasern der Köcherhaube befanden sich in einem leicht verdreckten, aber guten Zustand. Die Haarregionen wurden nicht zugeordnet. Die Haardicke lag bei 30 µm. Im REM ist eindeutig eine mosaikartige Struktur der Cuticula zu erkennen (Abb. 17c). Die lichtmikroskopische Betrachtung weist eine amorphe Medulla mit Gitterstrukturen nach (Abb. 17a). Damit konnten die Tiere Bär, Kamel, Rind, Hund, Pferd, Schaf eingegrenzt werden. Es bestehen Ähnlichkeiten zu den Proben 1/1, 4/1, 4/5, 6/2 und 15/1.



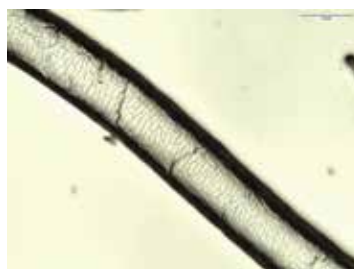
**a) Probe 15/1**  
LM, 20×, amorph  
Haarregion: n.b.



**b) Referenz**  
Schaf *Ovis vignei*,  
Deckhaar,  
LM, 20×, große  
Gitter  
Haarregion: n.b.



**c) Probe 15/1**  
REM, 1.5 K×, mosaic  
Haarregion: n.b.



**d) Referenz**  
Schaf *Ovis dalli* –  
Deckhaar  
ASM, 100×, mosaic  
Quelle: <https://alaskafurid.wordpress.com>  
Haarregion: n.b.

**Abb. 16:** Charakteristische Merkmale der Probe 15/1 Köcherhaube, rote Troddeln und Referenzen



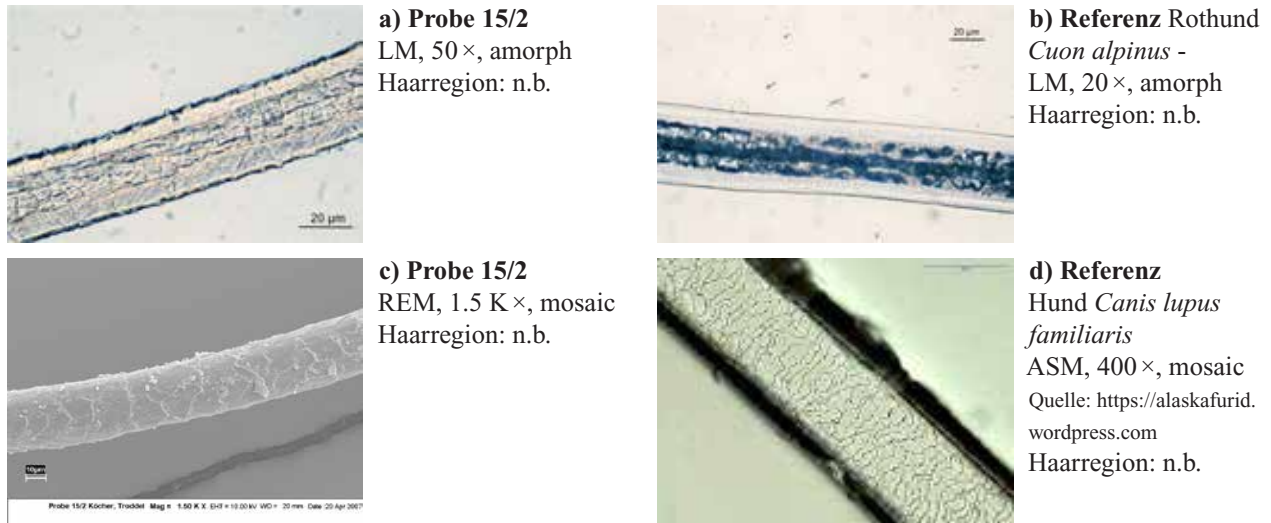


Abb. 17: Charakteristische Merkmale der Probe 15/2 Köcherhaube, gelbe Troddeln und Referenzen

### 3.2 MALDI-TOF-MS (SIAM)

Die Proben 1/1, 4/1, 4/5, 5/1, 6/2 stammen aus Schafen. Die Behandlung der Haare, die teilweise zu Filz verarbeitet waren, hatte keinen negativen Effekt auf die Identifizierung.

Die Proben 4/2 und 13/1 stammen vom Rind ab. Aus Zobel wurden die Proben 4/4, 4/6 und 4/8 hergestellt. Die Probe 4/3 wurde aus Eichhörnchenfell hergestellt, während die Proben 4/7, 9/1 und 9/2 aus einem Vertreter des Genus *Sciurus* abstammen, der aber nicht in unserer Datenbank verfügbar ist.

Völlig ausgeschlossen werden konnten das Alpine Murmeltier und das Steppenmurmeltier. Weder die spektralen Ähnlichkeiten, noch die diagnostischen Sets spezi-

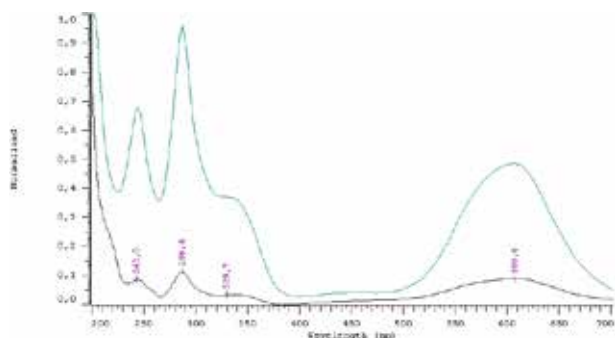
fischer Massen ließen diese beiden Vertreter als Möglichkeit zu. Da die SIAM-Methode den zoologischen Genus unbekannter Proben ermitteln kann, auch wenn die betreffende Spezies nicht in den Datenbanken verfügbar ist, aber nahe Verwandte als Referenzen vorliegen, können auch weitere Spezies des Genus *Marmota* ausgeschlossen werden.

### 3.3 HPLC

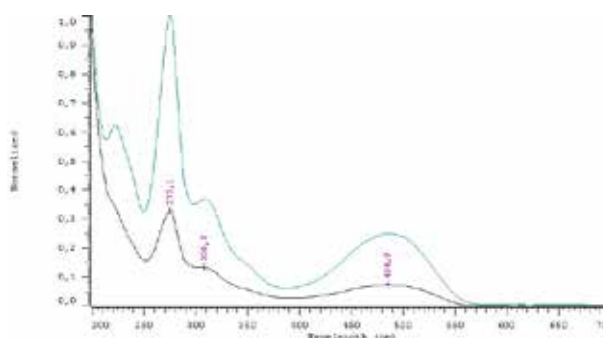
Die blaue Färbung der Tierhaare des Mantels (Probe 4.1) wurde unter Verwendung von Pflanzen mit indigoiden Verbindungen erzeugt. Abb. 18 zeigt den Vergleich der Absorptionsspektren von Indigo und des aus der Probe 4.1 gewonnenen Farbstoffes. Nach POLOSMAC

**Tabelle 3:** Identifizierung der Skythenproben mittels SIAM-Methode. Die infrage kommenden Datenbanken DB1 – DB4 sind mit + markiert, wobei (+) angibt, dass die benutzte Datenbank brauchbar war, aber dass die gesuchte Spezies nicht in der Datenbank vorhanden war.

Probenherkunft	Bez.	Material	DB 1	DB 2	DB 3	DB 4	Identifizierung	Diagnostik-Set
Kopfbedeckung	1/1	Filz	+	–	–	–	Schaf	Bestätigt
Mantel, blau gefärbt	4/1	Haar	+	–	–	–	Schaf	Bestätigt
Mantel, rot gefärbte Partie	4/2	Haar	+	–	–	–	Rind	Bestätigt
Mantel, unterer Randbereich	4/3	Haar	–	–	–	+	Eichhörnchen	Bestätigt
Mantel, mittlerer Bereich	4/4	Haar	–	–	–	+	Zobel	Bestätigt
Mantel mittlerer Bereich, blau gefärbt	4/5	Haar	+	–	–	–	Schaf	Bestätigt
Mantel, linker Ärmel	4/6	Haar	–	+	–	–	Zobel	Bestätigt
Mantel, Kragenoberseite	4/7	Haar	–	–	–	(+)	Vertreter von <i>Sciurus</i>	Nicht in Datenbank
Mantel, Kragenunterseite	4/8	Fadenmaterial	–	+	–	–	Zobel	Bestätigt
Hose, linkes Bein	5/1	Haar	+	–	–	–	Schaf	Bestätigt
Stiefel	6/2	Filz	+	–	–	–	Schaf	Bestätigt
Kammhülle, Außenseite	9/1	Filz	–	–	–	(+)	Vertreter von <i>Sciurus</i>	Nicht in Datenbank
Kammhülle, Innenseite	9/2	Filz	–	–	–	(+)	Vertreter von <i>Sciurus</i>	Nicht in Datenbank
Köcher, Außenseite	13/1	Filz	+	–	–	–	Rind	Bestätigt



**Abb. 18:** Farbstoff in der Probe 4.1  
 Blaue Kurve: Indigo; schwarze Kurve: Probe 4.1



**Abb. 19:** Farbstoff in der Probe 4.2  
 Blaue Kurve: Kermessäure; schwarze Kurve: Probe 4.2

et al. 2006 kommt als Färbepflanze der Indigostrauch *Indigofera tinctoria* infrage, der in Indien und in Mittel-asien wächst.

Die rote Färbung der Tierhaare des Mantels (Probe 4.2) geht auf die Verwendung von Kermes (*Kermes vermilio*) zurück (Abb. 19). Kermesfärbungen wurden bereits auf anderen Textilien aus den Eiskurganen des Bergaltai ge-

funden (Polosmak 2006). Als Herkunftsgebiete für die Färbetroge sind der Mittelmeerraum oder der Ferne Osten wahrscheinlich.

### 3.4 Zusammenfassung

Für die bessere Übersichtlichkeit wurden alle Ergebnisse tabellarisch zusammengefasst.

**Tabelle 4:** Tabellarische Zusammenfassung der Ergebnisse

Proben-Nr.	Entnahmeort	Institut	Analytik	Ergebnis
1/1	Kopfbedeckung, lose Filzfragmente	RF	LM	Bär, Kamel, Rind, Hund, Pferd, <b>Schaf</b>
		HU	REM	
		US	SIAM	<b>Schaf</b> , <i>Ovis spec.</i>
4/1	Mantel – blaue Fasern	RF	HPLC	Indigo
			LM	Bär, Kamel, Rind, Hund, Pferd, <b>Schaf</b>
		HU	REM	
		US	SIAM	<b>Schaf</b> <i>Ovis spec.</i>
4/2	Mantel – rote Fasern	RF	HPLC	Kermes
			LM	Bär, Kamel, <b>Rind</b> , Hund, Pferd, Schaf, Luchs, Waschbär
		US	SIAM	<b>Rind</b> , <i>Bos taurus</i>
4/3	Mantel – unterer Randbereich	RF	LM	Hase, Kaninchen, <b>Eichhörnchen</b>
		HU	REM	
		US	SIAM	<b>Eichhörnchen</b> , <i>Sciurus vulgaris</i>
4/4	Mantel	RF	LM	Fuchs, Nerz, Marder, Otter, <b>Zobel</b>
		HU	REM	
		US	SIAM	<b>Zobel</b> , <i>Martes zibellina</i>
4/5	Mantel – blaue Fasern	RF	LM	Bär, Kamel, Rind, Hund, Pferd, <b>Schaf</b>
			ESEM	
		HU	PCR	–
		US	SIAM	<b>Schaf</b> <i>Ovis spec.</i>
4/6	Mantel – linker Ärmel	RF	LM	Fuchs, Nerz, Marder, Otter, <b>Zobel</b>
			ESEM	
		HU	PCR	–
		US	SIAM	<b>Zobel</b> , <i>Martes zibellina</i>
4/7	Mantel – Kragen, Oberseite	RF	LM	Hase, Kaninchen, <b>Eichhörnchen</b>
		HU	REM	
		US	SIAM	Familie der <i>Sciuridae</i>

Weiterführung Tabelle 4

Proben-Nr.	Entnahmeort	Institut	Analytik	Ergebnis
4/8	Mantel – Kragen, Unterseite	RF	LM	Fuchs, Nerz, Marder, Otter, <b>Zobel</b>
			REM	
		HU	PCR	–
		US	SIAM	<b>Zobel</b> , <i>Martes zibellina</i>
5/1	Hose – linkes Bein, Innenseite	RF	HPLC	Kein Ergebnis
		HU	REM	Antilope, Bär, Karibu, Kamel, Katze, Hund, Rind, Pferd, <b>Schaf</b> , u.a.
		US	SIAM	<b>Schaf</b> <i>Ovis spec.</i>
6/2	Stiefel – Filz	RF	LM	Bär, Kamel, Rind, Hund, Pferd, <b>Schaf</b>
		HU	REM	
		US	SIAM	<b>Schaf</b> <i>Ovis spec.</i>
9/1	Kammhülle – Außenseite	RF	HPLC	Kein Ergebnis
			LM	Hase, Kaninchen, <b>Eichhörnchen</b>
		HU	REM	
		US	SIAM	Familie der <i>Sciuridae</i>
9/2	Kammhülle – Innenseite	RF	LM	Hase, Kaninchen, <b>Eichhörnchen</b>
		HU	REM	
		US	SIAM	Familie der <i>Sciuridae</i>
13/1	Köcher	RF	LM	Antilope, Karibu, Hirsch, Elch
		HU	REM	
		US	SIAM	Rind, <i>Bos taurus</i>
15/1	Köcherhaube – rote Troddeln	RF	HPLC	Kermes
			LM	Bär, Kamel, Rind, Hund, Pferd, Schaf
		HU	REM	
15/2	Köcherhaube – gelbe Troddeln	RF	HPLC	Kein Farbstoff
			LM	Bär, Kamel, Rind, Hund, Pferd, Schaf
		HU	REM	

#### 4 Diskussion und Bewertung

Die mikroskopischen Methoden sind sinnvoll für die allgemeine Betrachtung der Haare, deren Beschaffenheit und Zustand, sowie für die Bestimmung der Haarregion und -stärke. Die Verwendung der rasterelektronischen und lichtmikroskopischen Methoden ergänzt sich sehr gut, da durch eine höhere Anzahl von Informationen die Genauigkeit der Bestimmung zunimmt. Eine Bestimmung der Tierart allein mit einer der beiden Methoden ist nur mit großer Erfahrung möglich (Zalfen 2006). In dieser Arbeit reicht die Genauigkeit der Kombination der mikroskopischen Methoden jedoch nicht an die der SIAM Methode heran. Die fehlende Erfahrung der Autoren auf diesem Gebiet kann dabei als ein Grund angeführt werden. Eine sichere Zuweisung, war ohne die SIAM Angaben in 4 Fällen möglich. Verschiedene Schlüssel mit unterschiedlichen Bezeichnungen der Formen existieren, dabei war der verwendete Schlüssel gut nachvollziehbar und einfach in der Anwendung. Die Interpretation der Merkmale setzt jedoch außer der Kenntnis über die Haarstruktur auch ein erfahrenes Auge voraus.

#### 5 Danksagung

Ein besonderer Dank gilt Herrn Dr. Turni, dem damaligen Kustos der Säugetier Sammlung des Museums für Naturkunde Berlin, der aufgrund seiner hervorragenden Expertise zu einer umfassenden Auswahl der Referenzen beigetragen hat. Weiterhin danken wir Herrn Dr. Plötner und Herrn Schreiber aus dem Zoologischen Forschungslabor des Museums für Naturkunde (damals der Humboldt-Universität zu Berlin (HU) angehörig) für ihre Unterstützung bei den DNA-Entschlüsselungsversuchen mittels Polymerase Chain Reaction (PCR). Die Versuche zur DNA-Isolation brachten aufgrund der altersbedingten Substanzveränderung keine Ergebnisse und werden hier nicht weiter aufgeführt. Für Fragen rund um das REM des Instituts stand Frau Drescher tatkräftig und hilfsbereit zu Verfügung. Ebenso gilt Frau Schwerdtfeger und Herrn Sun Feipeng aus dem Rathgen-Forschungslabor Dank für die dort entstandenen ESEM Aufnahmen.

## Literatur

- M. Folin, E. Contiero (1996): *Forensic Science International* 1996; 83 : 191.
- K. Hollemeyer, W. Altmeyer, E. Heinzle (2002): *Analytical Chemistry* 2002; 74 : 5960.
- K. Hollemeyer, W. Altmeyer, E. Heinzle (2007): *Spectroscopy Europe* 2007; 19, 2 : 8.
- G. Lubec, M. Wenninger, S.R. Anderson (1997): *Journal of the Federation of American Societies for experimental Biology* 1997; 8 : 1166.
- Wlfried Meyer, Gregor Hülmann, Helga Seger (2002): *REM-Atlas zur Haarkutikulastruktur mitteleuropäischer Säugetiere*, Verlag M. & H. Schaper Alfeld Hannover.
- Nichola Petraco, Thomas Kubic (2003): *Color atlas and manual of microscopy for criminalists, chemists, and conservators*, CRC Press
- N. V. Polosmak, L.P. Kundo et al. (2006): *Textiles from the „frozen“ tombs in Gorny Altai 400–300 BC. An integrate study*. Publishing House of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk 2006.
- G. E. Rogers (2004): *International Journal of Developmental Biology* 2004; 48 : 163.
- M.A. Rogers, L. Langbein, S. Praetzel-Wunder, H. Winter, J. Schweizer (2006): *International Review of Cytology* 2006; 251 : 209.
- B.J. Teerink (2004): *Hair of West-European mammals – Atlas and identification key*, Cambridge University Press.
- Stefan Wülfert (1999): *Der Blick ins Bild – Lichtmikroskopische Methoden zur Untersuchung von Bildaufbau, Fasern und Pigmenten*, Bücherei des Restaurators Bd. 4.
- Udo Zalfen (2006): *Diskriminierung textilrelevanter Tierhaare durch Fourieranalyse zweidimensionaler Oberflächenprofile*, Dissertation der Fakultät für Mathematik, Informatik und Naturwissenschaften der Rheinisch-Westfälischen Technischen Hochschule Aachen, 2006.

Corresponding author:  
Sonja Krug (sonja.krug@bam.de)