

**Isotopanalyser av tenner til bruk i
identifiseringsarbeid**

Rettsodontologi

Skrevet av Marit Irgens Hov og Emilie Hübert, kull H17

Veiledet av Simen E. Kopperud



Masteroppgave i odontologi

Juni 2022

Institutt for klinisk odontologi

Det odontologiske fakultet

UNIVERSITETET I OSLO

Innholdsfortegnelse

| | |
|---|----|
| Sammendrag | 3 |
| Introduksjon | 4 |
| Mål | 6 |
| Litteratursøk | 7 |
| Isotoper | 8 |
| Karbon | 9 |
| Oksygen | 10 |
| Strontium | 11 |
| Bly | 11 |
| Akkumulering av isotoper i hårdvev og tanndannelsen | 12 |
| Hvilke tenner er gunstig å bruke? | 14 |
| Hvilke isotoper brukes i analysene? | 15 |
| Hvordan utføres isotopanalyse av tenner? | 17 |
| Isotopanalysen | 17 |
| Uthenting av prøvemateriale fra tann | 18 |
| Forbehandling av prøvemateriale fra tann | 21 |
| Strontium | 21 |
| Karbon og oksygen | 22 |
| Bly | 22 |
| Massespektrometri | 23 |
| Tolkning av resultatene fra isotopanalysene | 25 |
| Isotopanalyse og geokjemiske kart | 26 |
| Områder som er godt kartlagt og områder hvor man mangler informasjon. | 27 |
| Tidligere bruk av isotopanalyser i identifiseringsarbeid | 29 |
| Hvor utføres analysene? | 29 |
| Isdalskvinnen | 30 |
| Bruken av isokart for å finne Isdalskvinnens opphav | 31 |
| Begrensninger og feilkilder ved isotopanalyser | 32 |
| Oppsummering | 35 |
| Etterord | 36 |
| Referanser | 37 |

Sammendrag

Når rettsodontologer står overfor et helt ukjent lik der vanlige metoder for identifisering ikke leder frem til sikker identifisering, må man ta i bruk andre metoder. En av disse metodene er å analysere isotopene i tannemaljen. Ratioene til de ulike isotopene av grunnstoffene karbon, oksygen, strontium og bly varierer i jordsmonnet i ulike deler av verden. Isotopene tas opp i kroppen gjennom næringskjeden - også i hydrokxyapatitt under tanndannelsen. Siden tannemalje ikke fornyes i løpet av livet, vil den gi et slags «fingeravtrykk» av isotop-ratioen fra jordsmonnet i det geografiske området man levde i da tennene ble dannet. Ved hjelp av massespektrometri kan man bestemme nøyaktig fordeling av de ulike isotopene i emaljen og sammenligne verdiene man finner med såkalte isokart som viser isotopenes forekomst i ulike deler verden. Analysen vil bli mer nøyaktig jo flere isotoper man inkluderer. For rettsodontologer er det nyttig å ha inngående kunnskap om hvordan emaljen dannes, herunder inkorporasjon av isotoper under amelogenesis. I litteraturen er det beskrevet flere typer isotopanalyser, og det er ønskelig at det utarbeides internasjonale standarder for forbehandling av prøvematerialet hentet ut fra tann samt analysemetoder etter type grunnstoff.

Isotopanalyser alene er ikke nok til å fastslå den avdødes opprinnelsessted da vi lever i en globalisert verden hvor både folk og mat krysser landegrensene, og man kan ha en kompleks sammensetning av isotoper i emaljens forskjellige lag. Isotopanalyser er likevel et godt verktøy i jakten på ukjente menneskers identitet og kan i kompliserte ID-saker kanskje fungere som én liten bit i et større puslespill.

Introduksjon

Vår interesse for isotopanalyse kom da vi hørte om “Isdalskvinnen”, en antatt spion som ble funnet død, delvis forbrent i Isdalen i Bergen 29. november 1970. Kvinnen hadde de forutgående månedene blitt observert ved flere hotell i Norge, blant annet i Stavanger, Oslo og Bergen, men alle besøk var under falske navn og fødselsdatoer. Ingen etterlyste eller meldte kvinnen savnet, og identifiseringsarbeidet ga få resultater. Saken ble avsluttet etter bare noen uker, og politiet konkluderte med at hun måtte ha begått selvmord. Politiet gikk raskt ut i media med dette, noe som ble møtt med sterk skepsis i befolkningen. Det er fremdeles mange ubesvarte spørsmål knyttet til denne mystiske damen med flere identiteter, en unormal bagasje med klær uten merkelapper og et sett av sosiale normer som ikke passet med tiden [1, 2].

Identifisering av et lik benytter seg som regel av minst én av tre primærmetoder for identifisering: Fingeravtrykk, DNA og rettsodontologi. Alle tre metoder kan hver for seg lede frem til sikker identifisering, men det krever at man har noe å sammenligne med, som for eksempel en tannjournal, fingeravtrykk fra politiets database eller DNA fra en antatt nær slektning av avdøde. Alle kriterier bør understøttes av såkalte sekundærmetoder; medisinske, tekniske og/eller taktiske opplysninger. Odontologisk identifisering av en avdød person baserer seg på en objektiv sammenligning mellom den avdødes tannstatus og innsamlede tanndata fra en savnet person. Man skiller derfor mellom tannstatus som er samlet inn fra den avdøde etter døden (post mortem - PM) og tanndata som er samlet inn fra en savnet person da vedkommende fremdeles var i live (ante mortem - AM). Dersom AM-opplysninger ikke eksisterer eller man ikke har noen anelse om hvem den avdøde er, kan man ikke bruke noen av primærmetodene for identifisering. Dette er tilfellet med “Isdalskvinnen” der PM-opplysninger med odontologiske data, fingeravtrykk og en DNA-profil av liket eksisterer, men man ikke har noen ting til sammenligning. I slike tilfeller kan man benytte seg av sekundærmetoder – medisinske, tekniske og taktiske opplysninger – for å finne informasjon som kan gi en indikasjon på hvem vedkommende er [3].

I nyere tid har det kommet analyseverktøy som gjør at man i mye større grad enn tidligere kan finne ut mer om et lik, spesielt når informasjonen *ante mortem* er mangelfull.

Isotopanalyse av tannvev er ett av disse verktøyene, og ble utført på tennene til

“Isdalskvinnen” i 2016 for å forsøke å si mer om hennes egentlige alder og hvor hun kom fra

opprinnelig. Saken er dekket internasjonalt av NRK og BBC gjennom både en norsk og engelsk podcast [2, 4]. Tyske medier, blant annet avisen Die Zeit, har også vist interesse for saken [1]. Isotopverdier kan brukes til å geografisk vurdere hvor individet har oppholdt seg, samt tidsbestemme ved hvilken alder personen oppholdt seg i disse regionene [5]. Saken om “Isdalskvinnen” er første gang isotopanalyser er brukt i Norge i kriminalsaker og identifiseringsøyemed [6].

Innen rettsodontologi har vi foreløpig lite kunnskap om isotopanalyser og hvordan de gjennomføres, samt hvor spesifikke resultatene er og hvor nyttige de er til å identifisere personen. Siden rettsodontologer i politiets tjeneste fungerer som “eksperter på munnhulen” er tenner vårt ansvarsområde. Det er derfor viktig at vi har kunnskap om mulighetene isotopanalyser gir.

Mål

Målet med masteroppgaven er å belyse: (1) hvordan isotopanalyser av emalje utføres, og (2) hvordan isotopanalyser av emalje kan bidra i rettsodontologien til identifisering av opprinnelseslandet til en ikke identifisert person.

Masteroppgaven vil avgrense seg til isotopanalyser på grunnstoffene oksygen, karbon, bly og strontium. Vi har valgt å fokusere på disse fire grunnstoffene fordi dette er de mest brukte grunnstoffene innenfor isotopanalyser av tenner og er dermed de mest relevant å ha kjennskap til. Flere artikler [7-12] utfører isotopanalyser på tenner med hensyn til oksygen- og strontiumisotoper. Karbon er mye brukt i aldersbestemmelse av alle slags levninger, men finnes også i tenner [13]. Bly er et grunnstoff som i kroppen opptrer inaktivt i hardvev, og er derfor også mulig å måle i tenner [14]. Noen artikler gjør en såkalt multiisotop-studie, der alle fire grunnstoffene blir studert [15, 16]. Det kan derfor være av interesse å se på studier av alle disse fire grunnstoffene.

Oppgaven vil kun fokusere på isotopanalyse av emalje selv om isotopanalyse av andre hardvev også kan utføres. Fordelen med emalje er at den forblir uforandret etter tannbildningen og dermed kan gi en spesifikk isotopverdi i relativt avgrenset perioder av livet [17].

Litteratursøk

Denne oppgaven er en oversiktsartikkel med litteratursøk i hovedsakelig PubMed og i Google Scholar.

Søkestrategi som er benyttet:

- Startet med tradisjonell “søk og ekskluder” i Oria og PubMed. Vi brukte søkeordene “isotope” + “analysis” + “enamel”, deretter ekskludere vi alle artikler som ikke handler spesifikt om mennesker og emalje. Grunnstoffene ble også søkt opp slik:
 - “oxygen AND isotope”
 - “carbon AND isotope”
 - “lead AND isotope”
 - “strontium AND isotope”.

Deretter benyttet vi referansene i disse artiklene til å finne artikler om isoscapes og massespektrometri.

- Eksklusjonskriterier har vært artikler som fokuserer på detaljer som faller utenfor vår oversiktsartikkel. Nyere artikler har blitt prioritert fremfor eldre. Vi ekskluderte artikler som kun analyserte bein og dentin, samt andre grunnstoffer enn de fire inkluderte. I tillegg ble alle artikler som benytter isotopanalyser til å finne ut andre formål enn de nevnt under inkludering ekskludert.
- Originalartikler som tok for seg emalje, grunnstoffene oksygen, karbon, bly og strontium ble inkludert. I tillegg søkte vi opp artikler med detaljerte beskrivelser av hvordan alle deler av en isotopanalyse gjennomføres, hvordan isokart lages (spesifikke isotopverdier forskjellige steder i verden), og hvordan man kan vurdere isotopanalyser opp mot isokart.
- Der referanselistene ikke førte oss lengre har vi utført fokuserte søk spesifikt på det vi ønsker svar på, som oxygen/carbon/lead/strontium + isoscape, og oxygen/carbon/lead/strontium + masspectrometri.

Oppgaven tar altså utgangspunkt i relevant litteratur på fagområdet og omfatter totalt 74 referanser.

Isotoper

Et grunnstoff i periodetabellen består av protoner, nøytroner og elektroner, og er ordnet etter antall protoner som er i kjernen, kalt atomnummeret. Periodetabellen er ordnet i grupper (kolonner) og rader. Alle grunnstoff som befinner seg i samme kolonne vertikalt, altså samme gruppe, har like mange elektroner i ytterste skall. Dette gjør at de grunnstoffene som er i samme gruppe får mange like egenskaper og ligner på hverandre. Eksempelvis ligner egenskapene til strontium på kalsium. Alle grunnstoff på samme rad, har like mange elektronskall, som betyr at hver ny rad nedover i tabellen betyr et nytt elektronskall [18, 19].

Et grunnstoff kan ha flere isotoper. De ulike isotopene for samme grunnstoff har samme antall protoner og elektroner, men forskjellige antall nøytroner i kjernen. For eksempel har vanlig karbon seks protoner, seks elektroner og seks nøytroner, mens den radioaktive isotopen til karbon, C14, har seks protoner, seks elektroner og åtte nøytroner. Alle isotopene til et grunnstoff har altså like mange protoner i kjernen, hvilket innebærer at atomnummeret ikke er forskjellig. Derfor endres ikke selve grunnstoffet. Forskjellen på de ulike isotopene er massetallet, som er summen av antall nøytroner og protoner i atomkjernen [19].

Isotoper av et grunnstoff kan være stabile eller ustabile. Stabile isotoper vil ikke endres over tid. I ustabile isotoper er energiinnholdet for høyt til at det kan opprettholdes over tid. De ustabile isotopene kan kvitte seg med overskuddsenergien ved å sende ut stråling. Vi sier derfor at de ustabile isotopene er radioaktive. De radioaktive isotopene vil etter en tid endres, og går over til andre isotoper etter at stråling eller partikler sendes ut fra isotopen. Et eksempel på en stabil isotop er karbon C12 og C13, mens en radioaktiv isotop for karbon er C14. C14 sender ut overskuddsenergi ved at et nøytron i kjernen omdannes til et proton og et elektron. Elektronet eksiterer ut, og protoner blir værende i kjernen. Dette gjør at kjernen får et ekstra proton, og endres fra opprinnelig grunnstoff til et annet. C14 omdannes til en stabil nitrogenisotop (N14) [18].

Forholdet mellom to isotoper av samme grunnstoff blir ofte uttrykt via en såkalt delta-verdi. Denne verdien viser konsentrasjonen av en isotop sammenlignet med konsentrasjonen av grunnstoffets vanligste stabile isotop. Som eksempel kan vi se på ratioen mellom strontiumisotopene Sr87/Sr86. Den første isotopen (Sr87) er den radioaktive og ustabile isotopen som vi vet kan variere i konsentrasjon. Den sammenlignes med den stabile isotopen

av strontium, Sr86. Siden forskjellen i konsentrasjon av de ulike isotopene vanligvis er veldig små, er også delta-verdier svært lave, gjerne gitt med tusendeler, det vil si en promille-verdi, ‰ [20]. Delta-verdiene til isotopene vil variere i jordsmonnet i ulike deler av verden, og utgjør dermed grunnlaget for isotopanalysene vi skriver om i denne masteroppgaven.

Noen isotoper er mer vanlig enn andre. Isotopene med hyppigst naturlig forekomst, kalles ofte «light» - lette isotoper. De har oftest lave massetall, som vil si samme antall nøytroner som protoner i kjernen. Isotoper som forekommer sjeldent, refereres ofte til som «heavy» siden de vanligvis har høyere massetall enn de «lette» isotopene, det vil si flere nøytroner enn protoner i kjernen. Et eksempel på dette er oksygen, der den lette isotopen O16 utgjør mer enn 99% av alt naturlig forekommende oksygen i atmosfæren. Isotopen O18 er mer sjelden og har et høyere massetall på grunn av to ekstra nøytroner i kjernen. O18 kalles derfor «heavy», mens O16 betegnes «light». Det er likevel ikke slik at isotopen med det laveste massetallet automatisk er den hyppigst forekommende. For eksempel er Pb208 den vanligste isotopen av bly, men det finnes også lettere isotoper som Pb207 og Pb206 [21].

Dersom man ønsker å bestemme isotopforholdet i en prøve tatt fra naturen, kan man bruke et massespektrometer. Dette er et kjemisk instrument som analyserer en prøve i gassfase og skiller de ulike isotopene fra hverandre ut fra massen. På denne måten kan man identifisere de ulike isotopene av et grunnstoff basert på vektforholdet mellom lette og tunge isotoper [18].

Karbon

Karbon er et grunnstoff med atomnummer 6, og ansees som et av de viktigste grunnstoffene for liv på jorden. Dette er fordi karbon er en viktig byggestein i mange molekyler i levende individer og dyr. Karbon forekommer naturlig som granitt og diamant, og i atmosfæren er karbon viktig i gassen karbondioksid (CO₂). CO₂ er en viktig del av fotosyntesen der karbondioksid bidrar til å danne glukose/druesukker. Glukosen brukes av planter, og plantene spises igjen av dyr og mennesker som bruker glukose som byggesteiner i egne kropper.

Karbon varierer derfor i ulike former i atmosfæren, i krystallform/salter, i nedbøren og i de store havene og i jordskorpen. Nivået av karbon har variert gjennom jordas historie mest pga. menneskeskapt påvirkning de siste århundrene med moderne teknologi og forbrenning av

kull, olje og gass. I jordskorpen er karbonmengden cirka 200 ppm og i atmosfæren rundt 405 ppm, men sistnevnte stiger hvert år med cirka 2,5 ppm [22]. Karbon har tre isotoper: C12 og C13 som er stabile, og den radioaktive isotopen C14. 98,8% av karbonet i miljøet forekommer i form av C12, mens forekomsten av C13 er kun 1,1%. C14 utgjør en ekstremt liten andel av totalmengden karbon, $<10^{-12}\%$ [16, 23].

Oksygen

Oksygen er et essensielt grunnstoff for vår overlevelse, fordi cellene i kroppen er avhengig av oksygen til forbrenning. Oksygen har atomnummer 8. Kroppsmassen vår består av rundt 2/3 oksygen, der mesteparten er bundet i vannmolekyler (H₂O). I luften er innholdet av oksygenomtrentlig 21 volumprosent. I atmosfæren er andelen oksygen i luften nesten konstant, helt opp til 70 km over bakken. Oksygen er det vanligste grunnstoffet på jorden. Dette skyldes hovedsakelig vann som inneholder oksygen, i tillegg til det høye oksygeninnholdet i mineraler, eksempelvis silikatmineralene [24]. Mengden oksygen i atmosfæren fikk en brå stigning da enkelte livsformer på jordkloden, eksempelvis grønne planter og alger, startet med fotosyntese for om lag 2,4 milliarder år siden [25]. Gjennom fotosyntesen dannes oksygen ved bruk av CO₂, vann og sollys. De siste hundre millioner årene har O₂-mengden i atmosfæren vært stabil. Dette betyr at det har blitt brukt opp omtrent like mye oksygen som blir produsert. I dag bruker vi imidlertid mer O₂ enn det som produseres naturlig via fotosyntesen. Dette gjør at CO₂ øker i atmosfæren og er et stort miljøproblem. Dette skyldes hovedsakelig industriell påvirkning og avskoging som endrer landarealet på jorda, men også naturlige klimavariasjoner [26].

Oksygen har tre stabile isotoper: O16, O17 og O18. Innen medisin kan O17 og O18 brukes som sporstoffer når man forsker på reaksjonsmekanismer og bindingsforhold i kroppen. Isotopen O18 brukes i forskning på klima og for å finne ut hvordan klimaforholdene var og har endret seg gjennom jordas historie [24, 27]. Siden O16 er den letteste isotopen vil den opptre i høyere grad i fordampet form enn ved kondensering (ved regn eller snø), der man finner en høyere andel O18 [28]. En annen studie viser til at O18 vil øke i nedbør i områder med høye temperaturer. Forholdet mellom 18O/16O vil synke i luftmassene ved fordamping, dersom man taper vann. Dette fenomenet kan forekomme om man øker breddegraden eller øker høyden over havet. Om vinteren vil O18 være lav, grunnet lavere kondensertemperatur om vinteren [29].

Strontium

Strontium er grunnstoffet med atomnummer 38, og har fire naturlig forekommende isotoper: Sr84, Sr86, Sr87 og Sr88. Forekomsten av disse er for Sr84 0,56%, Sr86 9,87%, Sr87 7,04% og for Sr88 82,53%. I dette grunnstoffet er altså den tyngste isotopen, Sr88, den mest vanlige isotopen. Sr87 er radioaktiv og brukes mest i geologiske undersøkelser [5]. Strontium har nær relasjon til Rubidium (Rb87), som omdannes til strontium (Sr87) etter energitap fra stråling. Sr86 er en stabil isotop som ikke endres over tid. Ratioen mellom den radioaktive isotopen Sr87 og den stabile isotopen Sr86, skrives Sr87/Sr86 og benyttes mest ved geologiske undersøkelser. Forholdet reflekterer hvor mye strontium som er i prøven man har tatt, vurdert opp mot internasjonal standard. Denne standarden baseres på relativ forekomst av strontium i verden [5, 30]. Variasjonene av Sr87 i naturen har en kompleks og sammensatt forklaring bestående av flere komponenter. Blant annet nevnes forvitring av berggrunnen (som betyr hvor mye berggrunnen er nedbrutt av ytre krefter), berggrunnens sammensetning, høyde over havet, påvirkning av sjøsprøyt, andelen elvemunninger og nedbørsmengde [5]. I forhold til berggrunnen vil mengden Sr87 være påvirket av hvilke bergarter og mineraler som finnes lokalt, forvitringsgrad, nedbørsmengde og tid. Dette betyr at eldre steiner som inneholder rubidium og strontium, vil inneholde mer Sr87 enn yngre steiner grunnet høyere grad av omdanning fra rubidium til strontium over tid. Ratioen Sr87/Sr86 kan derfor måles lokalt på et geografisk sted og vil variere avhengig av hvor man har tatt målingen. Stein med mye granitt og leire har også mye rubidium og følgelig mye Sr-87. For eksempel vil det være høyere verdier av Sr87/Sr86 på de eldre øygruppene på Hawaii grunnet forvitring av vulkanfjellkjedene, sjøsprøyt, mye nedbør og store mengder av bergarten basalt. Dermed er større andel fritt strontium tilgjengelig her [5, 31]. Områder langs kysten vil påvirkes av sjøsprøyt, som gjør at både planter og jord får tilnærmet lik strontiumratio som sjøvannet. Dette kan man observere for eksempel i Skottland. Selv om sjøsprøyt og regnvann påvirker jordprøver, vil likevel forvitring av berggrunnen bidra med økte strontiumverdier spesielt i fjellkjeder som ligger høyt over havnivået [5].

Bly

Bly har atomnummer 82 og er et metall som er skadelig for miljøet. Bly ble tidligere brukt som fargepigment i blyanter, maling og kosmetikk, men er regulert i forskrifter i Norge fordi

blysalter er giftige. Bly forekommer naturlig i jordskorpen bundet til mineraler, eks. blyulfid, og innholdet er ca. 10 ppm. I USA, Russland, Australia og Canada forekommer bly naturlig i så store mengder at det drives produksjon. I Norge er forekomsten av bly i jordskorpen lavere enn de andre nevnte landene, altså ikke tilstrekkelig stor til å drive industri. Det vanligste blyholdige mineralet i Norge er galenitt, PbS, som finnes langs kanten av den skandinaviske fjellkjeden i ren form, spesielt i sandsteinslag [32].

Bly har fire naturlig forekomne isotoper: Pb204, Pb206, Pb207 og Pb208, der Pb208 er i største forekomst på 51,7%. De andre isotopenes forekomst er henholdsvis 1,4% for Pb204, 25,2% for Pb206 og 21,7% for Pb207 [32]. De tre sistnevnte isotopene er alle sluttprodukter av tunge radioaktive isotoper som forekommer naturlig, for eksempel er Pb206 fra uranrekken (U238). Bly brukes i geologien for å bestemme alderen på bergarter, og da brukes forholdet mellom for eksempel isotoper av uran og isotoper av Pb206 [33].

Isotopmengden av bly varierer med mengde forvitring, på samme måte som strontium. Hvilke blyisotoper som er til stedet, endres med jordsmonnets alder og med grad av forvitring [34].

Akkumulering av isotoper i hårdvev og tanndannelsen

Mengden av ulike isotoper varierer fra sted til sted i verden pga. geografi, grunnvann, matvarer og berggrunn. Disse faktorene kalles det ytre miljøet. Celler og vev i kroppen vil påvirkes av miljøet vi lever i, maten vi spiser og vannet vi drikker ved at de tar opp de isotopene som er tilgjengelig i det området man befinner seg. Oksygen og bly tas opp via lungene ved innånding og krysser over til blodbanen, der oksygen vil bindes til hemoglobin og fraktes rundt til alle kroppens celler [14, 24, 31]. De fleste andre isotoper ankommer blodbanen via opptak i tarmen, eller som bestanddel av andre næringsstoffer og brytes derfor ned i lever før distribusjon rundt til kroppens vev [35]. Noen isotoper, spesielt de radioaktive, lagres i vev med høy energiomsetning, eks. kreftceller, og har derfor også et bruksområde innen medisinsk diagnostikk [36] Med andre ord kan man analysere vev fra kroppen som fanger opp isotoper fra det ytre miljøet vi lever i, og på denne måten få en indikasjon på hvor i verden en person har befunnet seg i visse faser av livet [8].

Isotopene tas opp og lagres i vevet straks de ankommer dit, og forblir der til vevet skiftes ut med nye celler [8]. Utskiftning av celler, såkalt turnover, er en avansert prosess i kroppen, der

eldre celler skiftes ut med nye celler dannet hovedsakelig fra stamceller. Turnover av celler betegnes enten som *høy*, altså hyppig utskiftning, eller *lav* hvor det tar lengre tid før cellene skiftes ut med nye celler. Høy turnover skjer for eksempel i bløtvev eller tarmceller, mens cellene i eksempelvis hårdvev eller lungeepitel har lav turnover [37]. Dette påvirker hvor lenge isotopavtrykket kan analyseres. Høy turnover betyr at isotopavtrykket blir kortvarig, mens lav turnover betyr at isotopavtrykket blir langvarig [38].

Prosessen med utskiftning av celler, mineralkrystaller og fibre kalles remodellering i hårdvev [39, 40]. Siden hastigheten på remodelleringen varierer mellom ulike hårdvev, varierer det også hvor lenge isotopene som blir tilført vevet forblir der. Ifølge Kamenov et al vil en isotopanalyse av beinvev gi informasjon om en persons liv ca. ett år tilbake i tid [38]. En artikkel fra Hedge et al sier imidlertid at bein vil inneholde informasjon om en persons liv fra 10-30 år tilbake i tid, basert på en utregning av hvor lang tid det tar å remodelle en knokkel [41]. I regnestykket må det også tas i betraktning hvor gammel individet er, for barn har raskere remodellering enn voksne mest på grunn av vekst. Det avhenger også av hvilken knokkel som brukes i analysen og om spongiøst eller kortikalt bein analyseres [23]. Det er med andre ord litt uforutsigbart hva isotopanalyser av bein kan gi oss av informasjon.

Tenner er mer gunstig å bruke i isotopanalyser, siden tannsubstans ikke har turnover av celler slik som bein har [38]. Endringer i dentinstrukturen forekommer riktignok gjennom livet fra primær- til sekundær- og tertiær-dentin. Emaljen stiller i en litt annen klasse siden den ikke har noen turnover i det hele tatt og dermed vil holde seg svært stabil hele livet [5]. Emalje vil derfor i en del tilfeller være mest interessant å undersøke siden det er i likevekt med det ytre miljøet vi lever i på den tiden tennene dannes. Isotopanalyser av emalje kan dermed gi et ganske presist bilde på hvor en person har oppholdt seg i avgrensede stadier i livet fra fødsel til ungdomsårene dersom isotopene man finner er spesifikke for et bestemt geografisk område [17, 29, 42, 43].

Årsaken til den lave turnover i tannsubstans forklares av tanndannelsen. Emaljen dannes lagvis, fordi ameloblastene som danner emaljen jobber i et visst mønster under amelogenesen. Emaljen dannes ut fra emaljeorganet som er “hetten” av ektodermalt epitel og består av ulike celledag. I sent hettestadium og i klokkestadium i utviklingen av kronen vil de fleste utviklingsendringene skje. Ulike signalmolekyler vil bidra til å bestemme tannens form og utseende. Cellene differensierer og endrer dermed egenskaper: odontoblaster starter

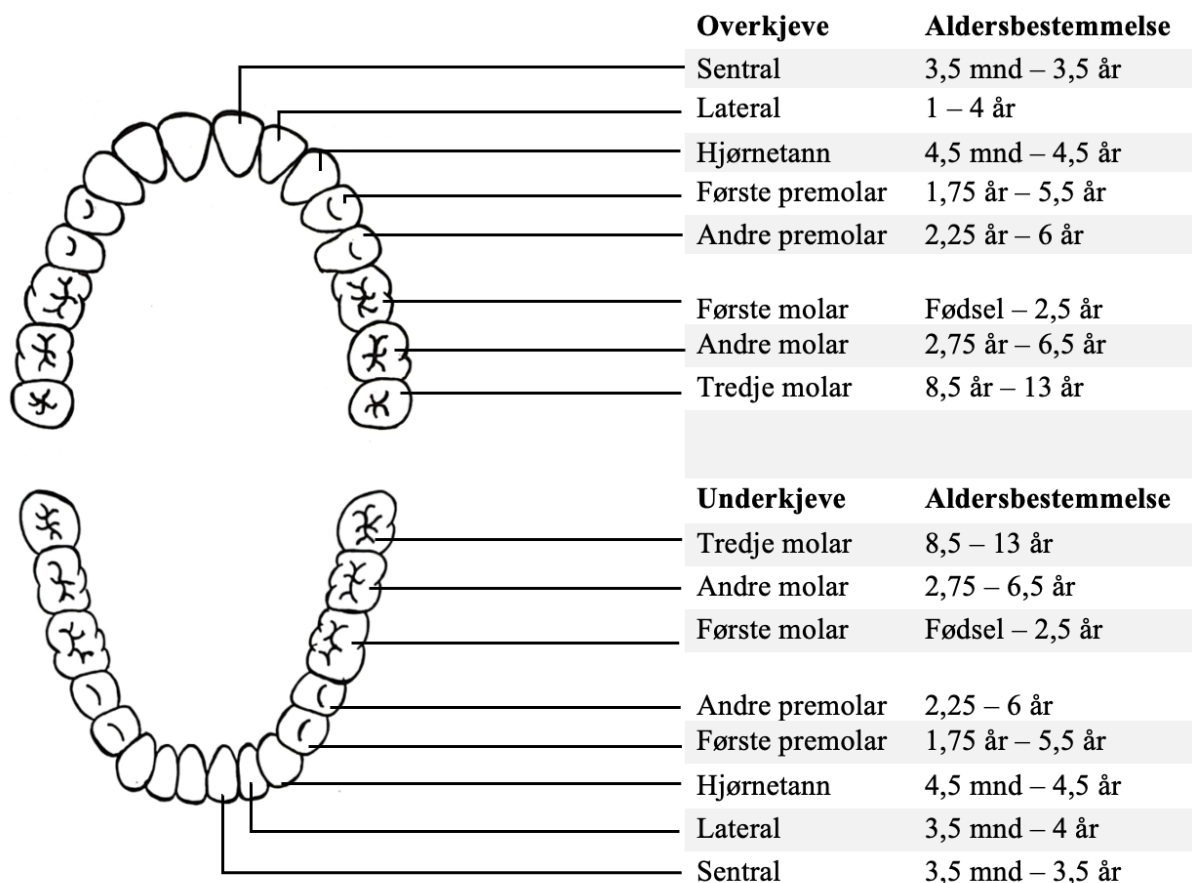
produksjon av dentin og ameloblaster produserer emalje. Odontoblastene produserer pre-dentin, som mineraliseres til dentin. Cellene i indre emaljeepitel i emaljeorganet omdannes til ameloblaster etter at pre-dentin har startet mineraliseringen. Ameloblasterne produserer emalje, i en prosess som kalles amelogenesen. Dannelsen av dentin og emalje i kronen skjer via en differensieringsgradient som starter ved cuspetoppen der cellene er høyest differensiert. Differensieringsgradienten brer seg nedover, fra det koronale til det cervikale, hvilket betyr at en tann dannes fra cuspetoppen og mot emalje-cement-grensen [44].

En organisk matrix består av blant annet proteinet amelogenin, som skilles ut fra ameloblasterne. Både i dentin og emalje finner vi såkalte vekstlinjer. Disse linjene i emaljen kalles Retziuslinjer, og vil fremtre i emaljen der ameloblasterne har tatt seg en pause i dannelsen av emaljematriksen. Senere byttes matrix ut med krystaller bestående av kalsium og fosfat, kalt hydroksoapatitt, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ [44]. Det er i disse krystallene at kalsium kan byttes ut med andre grunnstoffer og isotoper fra matvarer, luft, berggrunn og omgivelser, eks isotoper fra grunnstoffet strontium [42]. Det er derfor essensielt å vite hvordan tanddannelsen foregår for å kunne benytte informasjonen fra en isotopprøve av emalje. Dette har betydning for hvilken prøve som tas og hvor på tannen prøven tas fra, fordi det må kobles opp mot når emaljen på den spesifikke tannen ble dannet [38]. Emaljen vil senere modnes, som betyr økende mineraliseringsgrad, og krystallene utgjør nesten all vekt- og volumprosent i emaljen [44].

Hvilke tenner er gunstig å bruke?

De permanente tennene dannes ved ulike tider i livet, og kan dermed representere ulike faser i livet ved isotopanalyser. Første molar starter mineralisering ved fødsel og har ferdigdannet emalje ved ca. 2,5 års alder. Resultatet fra isotopanalyse av denne tannen kan derfor brukes til å detektere hvor et individ oppholdt seg fra ca. 0-3 års alder. Undersøkes andre molar i tillegg får vi informasjon helt opp til rundt 7 års alder. Da har man dekket ganske store deler av barndommen. Visdomstennene kan inneholde informasjon fra rundt 8 års alder og helt frem til ferdig emaljedannelse som varierer fra 13 år til 20 år. Siden mineraliseringen foregår over såpass lang tid, gir isotopanalyser av denne tannen et mindre spesifikt svar enn de andre tennene. Analyseres større deler av tannen, eksempel roten, vil det naturligvis være en større tidsperiode man kan fortelle om, men da er også usikkerheten større siden roten ikke har emalje. Når man kjenner til de ulike tanntypenes forskjellige mineraliseringstid fra første tegn

til ferdig dannet emalje, kan analyser av isotopfordelingen i emaljen på bestemte tenner gi et bilde av hvor vedkommende har levd i ganske avgrensede tidsepoker. Forutsatt at den naturlige isotopfordelingen er karakteristisk for jordsmonnet i et bestemt geografisk område, er det sannsynlig at vedkommende har oppholdt seg der i den perioden tannen ble dannet [30].



Figur 2: Viser mineraliseringstiden for emalje og dermed hvilken tidsperiode isotopene har akkumulert der. Illustrasjon: Marit Irgens Hov.

Hvilke isotoper brukes i analysene?

De mest relevante isotopene som brukes til geografisk lokalisering av hvor en person kan ha befunnet seg, er karbon C14 og C13, strontium Sr86/87, oksygen O16/18 og bly Pb206.

I forhold til diettvaner er det hensiktsmessig å vite at marine matvarer, som tang, fisk og andre sjøpattedyr, vil inneholde relativt høyere mengde C13 enn C12 fordi havet inneholder

mer av den tyngste isotopen C13. Dette betyr at personer med høyt inntak av marine matvarer, har økt mengden C13 i kroppen [45].

For oksygen vil drikkevannet på fødested ha sammenheng med kroppsvann som videre påvirker vevene i kroppen, deriblant tenner [46]. I tenner vil det være en sammenheng mellom mengden O18 man finner i fosfat (PO_4^{3-} som befinner seg i tenner) og drikkevannet i nærområdet [29]. Isotopvariasjonen og forholdet mellom isotopene vil variere i regnvannet ut fra temperatur, breddegrad på jordkloden, høyde over havnivå, nedbørsmengden, fuktighet, sesong og grad av resirkulering av vannet. Dette gjør at isotopverdiene i drikkevann som påvirkes av regnvannet varierer i verden, og de ulike verdiene for oksygen kan derfor brukes til sammenligning [28, 29].

Strontium fra berggrunnen og steiner i nærmiljøet vil reflekteres via dietten vår [47]. Dette handler om at grunnvann vil filtreres gjennom berggrunnen der mineraler av strontium befinner seg og gi næring til planter og korn som via hele næringskjeden til slutt ender opp som mat og drikke som mennesker inntar. Strontium tas opp i kroppen via maten og erstatter kalsium i ulike hårdvev som for eksempel tenner. Emaljen inneholder som kjent mye kalsium. Strontium og kalsium ligner hverandre, fordi de reagerer med mange av de samme komponentene og har omtrent samme molekylstørrelse. Det betyr at under emaljedannelsen kan strontium inkorporeres i hydroksyapatitt istedenfor kalsium. Ratioen av de ulike isotopene til strontium vil være den samme som vannet og dietten en person spiste når tennene ble dannet. I tennene vil denne ratioen som nevnt ikke endres etter at emaljen er ferdigdannet [5, 30].

For strontium gjelder også det samme som for C13-karbon og maritime matvarer: Det er sett en økt sammenheng mellom individer som spiser mye sjømat, eller lever ved kystlinjer med mye sjøsprøyt, og høyere verdi av Sr87/Sr86 sammenlignet med dem som bor i innlandet. Det kan dermed antas at de som lever langs kysten generelt i verden, har høyere Sr87/Sr86 og C13 enn resterende befolkning [5, 31].

Selv om bly er giftig, inntas det små mengder via mat, drikke og innånding fra støv eller damp som inneholder bly [14, 31]. Kroppen til et voksent menneske består derfor normalt av cirka 120 mg bly, og store deler av blyinnholdet befinner seg inaktivt i beinsubstans og tenner [14]. Mengden bly i tannsubstans varierer, men konsentrasjoner under 0,7 ppm regnes som

naturlig eksponering for bly hos mennesker, mens konsentrasjoner over 0,7 ppm regnes som antropologisk forhøyet og dermed menneskepåvirket [31]. Absorpsjonen av bly er større hos barn enn voksne. Dette kan delvis forklares ved at blyinnholdet hos mor passerer placenta og lagres hos foster [14]. Forskjellene kan mulig forklares via sosiale og kjønnsrelaterede roller i samfunnet. Eksempelvis har kvinner historisk sett vært mer hjemme, blitt utsatt for produkter og objekter med blyinnhold (for eksempel kjøkkenartikler) og de drev hyppigere med matlaging. Underernærte barn kan ha høyere mengder tungmetaller i skjelett og emalje, grunnet for lite kalsium i dietten. Dette kan føre til raskere og større absorpsjon av tungmetaller. Et lavt kalsiuminntak i barndommen kan derfor resultere i høyere blykonsentrasjoner ved isotopanalyser av tenner og bein [31].

Hvordan utføres isotopanalyse av tenner?

Tenner som skal benyttes til isotopanalyser må være så intakte og uberørte av karies og tannrestaureringer som mulig for at man skal kunne hente ut isotoper som ligger i emaljen. Det mangler forskning på om isotopverdiene i kariøs tannsubstans har signifikant verdi, så det bør dermed unngås i prøvene som tas [42]. Karies i andre deler av tannen påvirker ikke isotopverdiene til frisk emalje i samme tann. Tenner med store restaureringer kan også være ugunstig fordi store deler av emaljen på slike tenner er boret vekk. Tenner bør også være minst mulig forurenset: tenner som har ligget eksponert i jorden over lang tid vil representere en viss usikkerhet, men dette ekskluderer ikke tennene da ytre lag av emaljen uansett fjernes i forbehandlingen før isotopanalysen. Det er likevel et viktig moment å ha med når man velger ut hvilke tenner i et tannsett som skal benyttes for å sikre mest mulig korrekte data i en isotopanalyse.

Isotopanalysen

Ved isotopanalyse brukes det store analyseverktøy med flere variabler, kalt multi-isotope profiler, der flere grunnstoffer inkluderes. Eksempler på grunnstoffer er karbon, nitrogen, oksygen, hydrogen, strontium og bly. Moreiras Reynaga et al [9] diskuterte at isotopanalyse av strontium kan brukes i kombinasjon med oksygen, og peker på nyttigheten av å benytte

både oksygen og strontium for å få et mer informativt og presist svar på opphavssted. Miller et al benyttet også multi-isotopanalyse med karbon og oksygen [48].

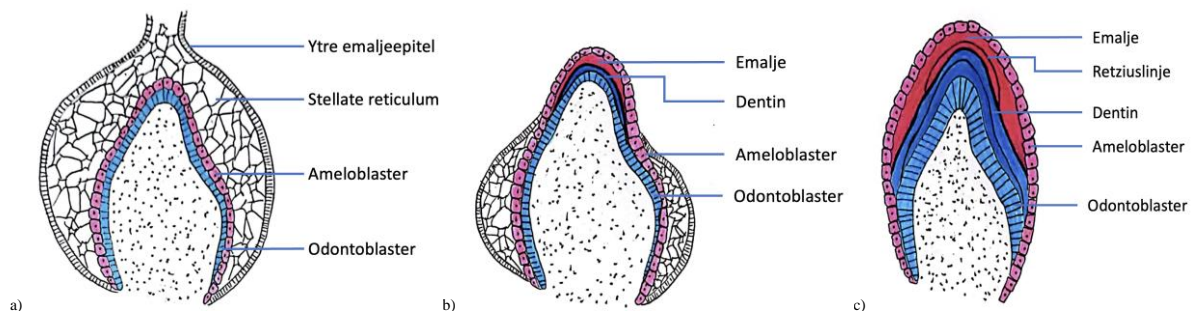
Isotopfordelingen i en prøve kan bestemmes med et massespektrometer. I massespektrometeret vil massetallet til isotopene påvirke hvordan de beveger seg. Dette registreres av maskinen og avleses av apparatet. Alle isotoper med samme massetall vil oppføre seg likt, og dermed gi likt utslag, og man kan dermed registrere ganske nøyaktige forholdstall mellom de ulike isotopene.

Når en isotopanalyse av hårdvev gjennomføres kan man se på enten proteininnholdet i vevet, for det meste kollagen, eller man kan se på mineralinnholdet. For bein brukes for det meste proteinet, kollagen, fordi det viser mengden nitrogen som ikke vises i mineralkomponenten og sier noe om proteininnholdet i for eksempel dietten til avdøde. Mineralinnholdet vil kunne si noe om protein, fett og karbohydratmengden i kosten til avdøde. For tenner kan vi se på mineralinnholdet i emaljen, for som nevnt tidligere er det lite kollageninnhold i emalje, og proteinkomponenten egner seg derfor dårligere.

Uthenting av prøvemateriale fra tann

Det finnes to typer prøver som hentes ut fra emaljen; serieprøve og bulkprøve. Begge disse kan hentes ut fra utsiden av en intakt tann [49, 50] eller ved å dele tannen i to longitudinelt langs bukko-lingualplanet og hentes direkte fra indre deler av tannen [51].

Serieprøvene, også kalt intraprøver, hentes fra indre deler av tannen i kronologisk rekkefølge fra kronen på tannen nedover mot emalje-cement-grensen og følger da dannelsen av emaljen fra tidlig til sent stadium.



Figur 3: Amelogenesen. a) Tannfollikkel i tidlig klokkestadie med ytre emaljeepitel, stellate reticulum, ameloblaster og odontoblaster som danner b) emalje og dentin, hvor det i emaljen dannes c)

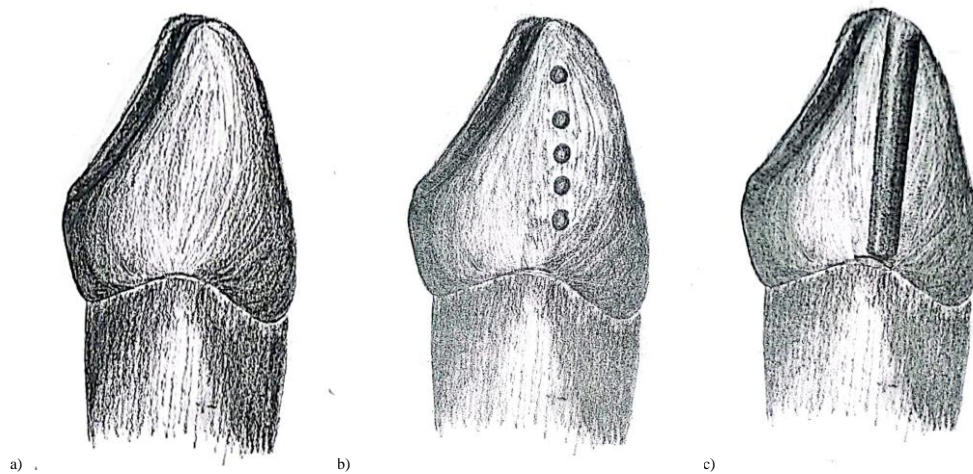
Retziuslinjer som følge av ameloblastenes hvileperioder ca hver 6-11 dag under amelogenesisen.

Illustrasjon: Marit Irgens Hov

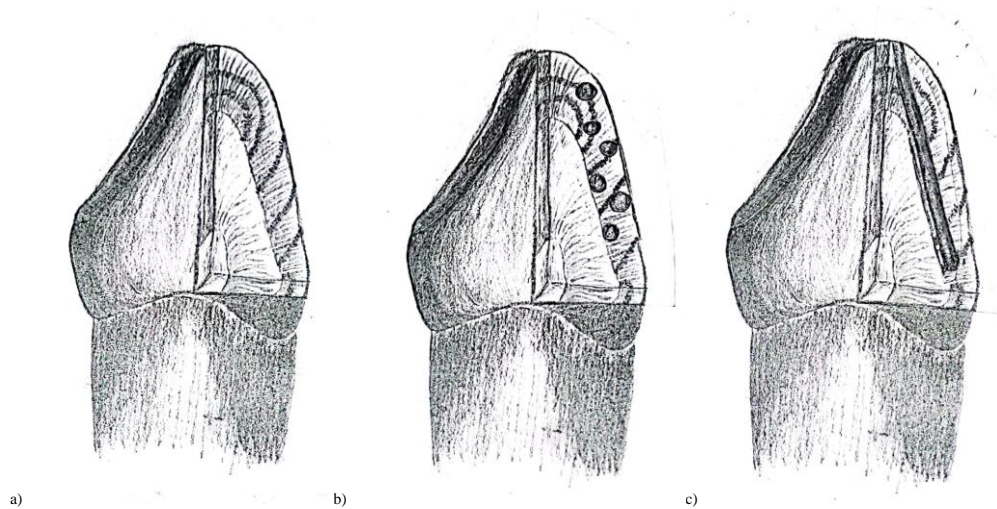
Fra hver serieprøve vil man kunne hente ut isotop-data fra mindre perioder av mineraliseringen av hele tannen. Det er likevel ikke mulig å presist hente ut prøver fra spesifikke tidsperioder hvor emaljen ble mineralisert grunnet hvordan emaljen modnes fra matrix til krystaller; Dannelsen av emaljen starter ved at ameloblastene danner matrix i indre del incisalt og strekker seg ut til cuspetoppene, samt fra øvre deler av tannen og ned mot cervikalgrensen. Modningsfasen, hvor krystalliseringen av emaljen foregår, starter i forskjellige deler av emaljen, og har varierende hastighet på krystalliseringen [52]. Dette gjør at selv mindre serieprøver vil ha en viss overlapp av hydroksoapatitt-krystaller i emaljen som er mineralisert ved forskjellige tidsperioder. Prøvesvarene fra isotopanalysen vil dermed uansett gi et større eller mindre gjennomsnitt fra tidlig, midtre og senere del av mineraliseringen av tannen.

Bulkprøvene hentes langs hele lengdeaksen av emaljen, og inkluderer dermed alle lag fra krone til emalje-cement-grensen. Dette gjør det mulig å hente ut isotop-data fra et større gjennomsnitt av tidsperioden hvor tannen ble mineralisert.

Prøvene har i stor grad blitt hentet fra bukkal side av tennene da den typisk har tykkere emalje, og tidligere prøvetaking krevde større prøvestørrelser [49]. Etter hvert som teknologien for prøvetaking har utviklet seg, og det kreves mindre kvanta for å utføre en isotopanalyse kan man gå over til å hente ut prøver fra indre del av emaljen. Dette er ønskelig da matrix som dannes her tidlig i amelogenesisen krystalliserer raskere og i høyere grad danner hydroksoapatitt over en kortere tidsperiode enn ytre deler av emaljen [53, 54]. Risikoen for kontaminering fra omgivelsene reduseres ved bruk av indre emalje. Prøver tatt fra indre 20 um av emaljen vil ha høyere grad av homogenisering av isotopverdiene enn ytre deler som følge av mineraliseringstid og mineraliseringsmønster [54-57]. Med homogenisering av mener vi her at prøver tatt fra midtre og ytre deler av emaljen vil ha en blanding av isotopverdier som kommer ut som et gjennomsnitt av mineraliseringsperioden i stedet for særlig tidsspesifikke, særegne isotopverdier som fra innerste del av emaljen.



Figur 4: Prøveuthenting fra overflaten av intakt tann. a) Intakt tann. b) Serieprøver hentet fra koronalt ned mot emalje-cementgrensen. c) Bulkprøve hentet fra hele lengden til tannen fra det koronale til emalje-cementgrensen. Illustrasjon: Marit Irgens Hov



Figur 5: Prøveuthenting fra tann delt i to. a) Venstre i bildet sees intakt tann, høyre i bildet sees kronen delt i to. Bildet illustrerer forskjell på hvor i tannen prøven hentes ut, mens i realiteten deles hele tannen i to. b) Serieprøver hentet ut perpendikulært i forhold til retningen prøvene hentes ut fra intakt tann. c) Bulkprøve hentet fra innerste del av emaljen, nærmest mulig emalje-dentin-grensen. Illustrasjon: Marit Irgens Hov

Prøvematerialet kan hentes ut via håndholdt drill og tann, men dette gir lav presisjon og krever et stort kvanta av prøvematerialet [49]. Det kan også hentes ut ved hjelp av fiksert presisjonsdrill og tann, noe som muliggjør større presisjon og mindre kvanta av prøvematerialet [51]. Laser kan også benyttes i stedet for bor, noe som igjen fører til enda større presisjon og betydelig mindre kvanta av prøvematerialet [58]. Denne teknikken krever likevel en del forarbeid: tannen må deles i to longitudinelt og flaten prøvene hentes fra må

være så flat og rett som mulig. Det er mulig å benytte laser på en intakt tann, men tannens kurvatur kan føre til at laseren ikke er tilstrekkelig fokusert og at resultatene blir mindre nøyaktige [59].

Forbehandling av prøvemateriale fra tann

Det finnes ingen standardisert metode for å hente ut prøvemateriale, og heller ikke for forbehandling av prøvene før selve isotopanalysen. Fellestrekkene i de ulike protokollene vi har funnet er at tannen må rengjøres for jord, tannstein, plakk og annet materiale som ikke er emalje før prøvematerialet kan hentes ut da disse vil kunne kontaminere prøven [50].

Deretter renses emaljeprøvene i flere omganger med ulike kjemiske løsninger som beskrevet nedenfor, for å fjerne stoffer som ikke skal være med i analysen, eller som kan påvirke data som hentes ut fra massespektrometri-analysen. Hvorvidt det anses som nødvendig å fjerne organisk materiale er omdiskutert. Miller et al [48] fjerner ikke organisk materiale før uthenting av stabile karbon- og oksygen-isotoper, da de kjemiske løsningene NaClO og H₂O₂ som ofte benyttes til dette, kan endre de stabile isotopene, samt at fosforsyren som brukes senere uansett ikke reagerer med det organiske materialet i emaljen.

I litteraturen har vi funnet separate, detaljerte arbeidsbeskrivelser som tar for seg forbehandling av prøvene avhengig av hvilket grunnstoff det skal gjøres isotopanalyse av. Prosedyrene presenteres her med henvisning til studiene de er hentet fra:

Strontium

Copeland et al [60] forbehandlet prøvematerialet for å gjøre isotopanalyser av strontium etter følgende protokoll:

1. Prøven, altså pulver av emalje, ble utsatt for ultralyd i 30 min
2. Renset tre ganger med sterilisert vann
3. Renset med aceton (C₃H₆O)
4. Lufttørket over natten
5. Prøvene ble veid og plassert i 3 ml reagensrør
6. Prøven ble løst i 14,3 M salpetersyre (HNO₃).
7. Varmet opp til 120° C
8. Tørket

9. Løst opp i 3,0 M HNO₃
10. Overført til 3 ml reagensrør med Strontium-spesifikk resin med størrelse på 50-100 um i sterilisert vann
11. Vasket flere ganger med 3,0 M HNO₂
12. Strontium løst ut i sterilisert vann og tørket
13. Strontium løst ut i 3% HNO₃ før massespektrometrianalysen

Karbon og oksygen

Miller et al [48] forbeholdt prøvematerialet for å gjøre isotopanalyser av karbon og oksygen etter følgende protokoll:

Forbehandling med eddiksyre:

1. Tilsatte 0,1 M eddiksyre til prøven i reagensrør, agiter og la stå i 10 min
2. Mikrosentifugerte i 2 min
3. Erstattet eddiksyre med sterilt vann
4. Mikrosentifugerte i 2 min
5. Gjentok erstatning med sterilt vann og mikrosentifugering to ganger til
6. Plasserte film med ett hull over reagensrør, lot lufttørke
7. Frysetørket til all fuktighet er fjernet. Hvis frysetørker ikke er tilgjengelig kan prøvene forsiktig varmes opp til 40° C slik at fuktighet evaporerer.
8. 2 mg av prøvematerialet ble benyttet i massespektrometrianalysen på grunn av relativt lav andel karbonat i emalje.
9. Karbon og Oksygen sine isotopverdier ble målt i form av CO₂

Bly

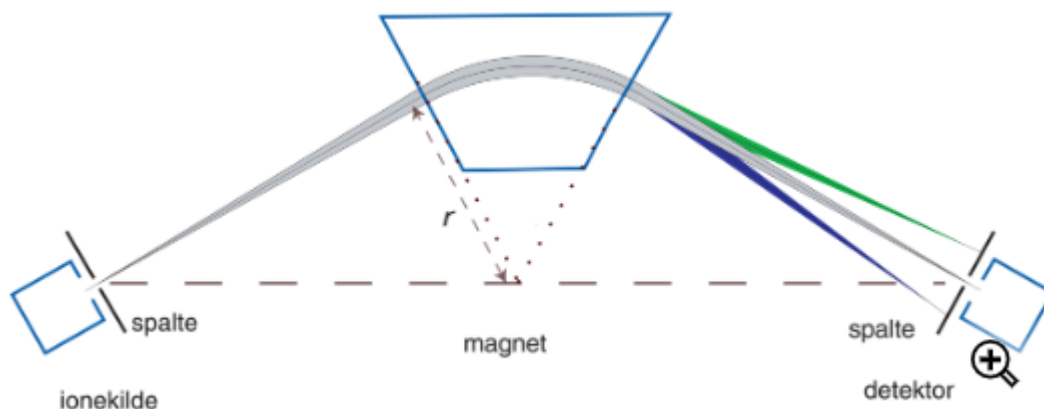
Laffoon et al [61] forbeholdt prøvematerialet for å gjøre isotopanalyser av bly etter følgende protokoll:

1. Renset prøven med flere ganger med sterilisert vann, etterfulgt av ultralyd i 5 min
2. Løste ut prøven i 2,0 M HCL med Pb205-U235markør-løsning med kjent konsentrasjon
3. Lufttørket
4. Løste ut prøven i 1,0 M HBr

5. Bly fra prøvematerialet ble rensset ut ved standard HBr-HNO₃ kromatografi ved hjelp av et anion-resin fra Eichrom. Prosessen ble utført to ganger
6. Bly ble sammen med Silisium-gel og forsørsyre (H₃PO₄) lagt på Rhenium-bånd før termisk massespektrometri ble utført

Massespektrometri

Etter at prøvene er hentet ut og forbehandlet etter prosedyrene ovenfor, brukes et massespektrometer for å utføre selve isotopanalysen. Man skiller i hovedsak mellom en løsningsbasert metode og en laserbasert metode. Metodene skilles fra hverandre ved måten man innhenter prøvematerialet fra emaljen, her forklart ved Copeland et al 2008 [60]: Ved løsningsbasert massespektrometri borres det i tannen slik at emaljen pulveriseres, og utsettes så for ulike kjemiske prosesser hvor man står igjen med et rent produkt som kan benyttes i en løsning som så kjøres gjennom massespektrometeret. Ulempen ved å benytte en løsning er at det kreves relativt mye tannsubstans, samt at prøvematerialet kan ikke gjenbrukes. Ved laserbasert massespektrometri beholdes tannsubstansen intakt, det er en *in situ* analyse. Laseren er en del av massespektrometeret og fragmenterer molekylene i emaljen ved bruk av laser i stedet for bor. Dette er svært substansbesparende da man kun trenger å hente ut en prøve på 250x750 um. Prøven injiseres i plasma før isotopanalysen utføres i massespektrometeret. Dette er en relativt rask prosess sammenlignet med løsningsbasert analyse. En svakhet ved denne analysemetoden er at strontium ikke måles med stor nok presisjon til at resultatene er statistisk signifikante uten korreksjon. Det er en overlapp mellom Sr87 og Rb87 i alle isotopanalyser av strontium. Ved løsningsbasert massespektrometri fjernes rubidium. Dette er ikke mulig med laser og man må korrigere resultatene for mengde rubidium etter den naturlige forekomsten ratioen 87Rb/85Rb har. Denne er relativt konstant [60].



Figur 6: Hovedkomponentene i et massespektrometer er prøveinnføringssystem, ionekilde, masseanalysator, detektor og et datasystem. Illustrasjon hentet fra «Store norske leksikon» [62].

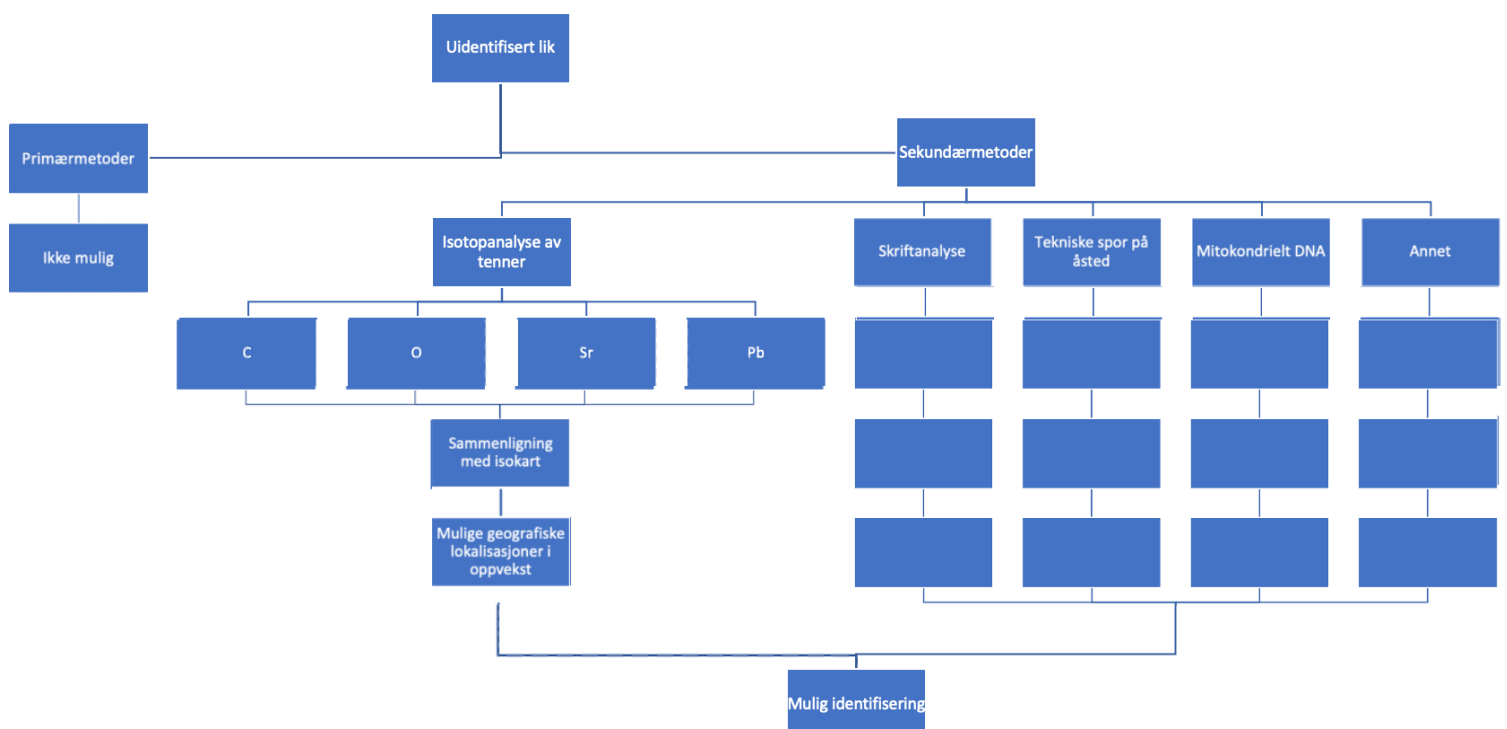
Den videre prosedyren for massespektrometri er felles for alle metodene; prøvene som skal analyseres gis en elektrisk ladning og brytes opp i fragmenter som det deretter er mulig å analysere. Molekylene som sendes inn i massespektrometeret splittes i enda mindre deler, hvor ionene igjen separeres etter deres masse, m , og ladning, z . Forholdet mellom disse kalles m/z -verdien og avgjør hvordan ionene beveger seg gjennom massespektrometerets elektriske felt. Hovedkomponentene i et massespektrometer er prøveinnføringssystem, ionekilde, masseanalysator, detektor og et datasystem (figur 6). Følgende skjer med prøven som skal analyseres [62]:

1. En prøve må omdannes til gass før ioniseringen kan forekomme. Dette skjer ved at molekylet tilføres energi i akselerasjonsfeltet, som er et elektrostatisk felt. Ofte vil prøvematerialet befinne seg i tinnkapsler som vil starte å brenne i det elektrostatiske feltet slik at gass produseres.
2. Ionene som nå har oppstått etter ionisering vil ledes i en samlet, skarp stråle inn til masseanalysatoren, der elektriske eller magnetiske felter vil separere ionene ut fra forskjeller i m/z -verdi. Dette skjer ved en avbøyning i et homogent magnetfelt, og ionene beveger seg deretter i en sirkelbane mot en detektorplate som sitter bak en spalte. Hvor de treffer detektorplaten avhenger av radiusen til banen til ionet som igjen er avhengig av ionets m/z -verdi. Det er kun bestemte ioner som vil treffe masseanalysatoren, altså detektoren, pga. spalten som vil stanse de andre ionene. Dette betyr at massespektret kan innstilles på hvilke ioner som skal registreres, altså detekteres, og leses av i et datasystem.

- I tillegg til å bruke magnet-masseanalysator, brukes også elektrostatisk analysator, slik at ioner med liten forskjell i m/z-verdi kan skilles fra hverandre i detektoren. Dette kalles dobbelfokuserende eller høyttoppløsende instrumenter.
- Ved benyttelse av mangekanaldetektorer blir det mulig å detektere flere m/z-verdier samtidig.

Tolkning av resultatene fra isotopanalysene

Svarene fra massespektrometeranalysen av emaljeprøvene gir en oversikt over fordelingen av de ulike isotopene i emaljen. Dette kan samholdes med informasjon om geologisk sammensetning av berggrunnen i ulike geografiske områder, siden vi antar at isotopene fra berggrunnen og jordsmonnet blir tatt opp i maten som dyrkes der. Geologisk er berggrunnen og topplaget bestående av forskjellige bergarter og isotoper som følge av sand og støv som har blitt fraktet med vind og under isbreer. Maten et menneske spiser er ofte hentet inn fra et større geografisk område bestående av flere isotop-ratioer. Man kjenner isotopverdiene i berggrunnen mange steder i verden. Eldre berggrunn midt på kontinent og yngre nydannet berggrunn ved undersjøiske tektoniske plateforkastninger har øvre og nedre verdier av isotop-ratioer. Følgelig vil man ha forskjellige isotopverdier ved forskjellige geografiske områder som f.eks. fjelltopper og dalbunner

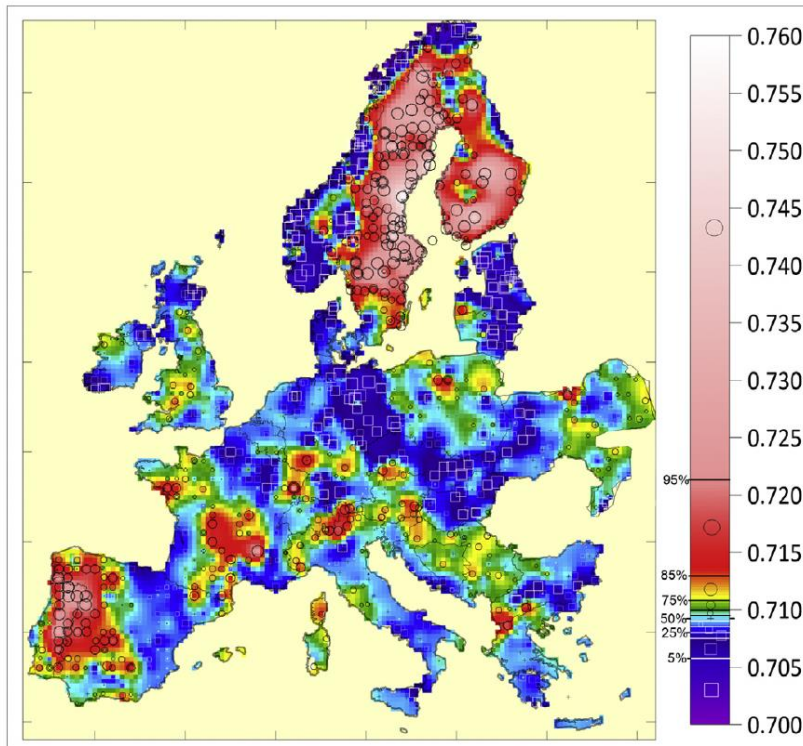


Figur 7: Diagram som demonstrerer at isotopanalyser alene ikke kan gi noen konklusjon om identitet, men i kombinasjon med mange andre sekundærmetoder (tekniske og taktiske opplysninger som for eksempel skriftanalyse, mitokondrielt DNA, tekniske spor fra åsted, etc.) til sammen kan bidra til en indikasjon på hvem den avdøde er.

Isotopanalyse og geokjemiske kart

Prosjektet “Geochemical Mapping of Agricultural Grazing Land Soil” (GEMAS) har kartlagt nivåer av metaller og deres isotoper i jordsmonnet i Europa. Isotopnivåene i jordsmonnet i forskjellige deler av verden tas ved at flere områder på 50x50km velges ut i hvert land. Deretter hentes det ut to jordprøver, en fra beitet mark og en fra dyrket mark. Prøvene analyseres og isotopverdiene bestemmes. Isotopnivåene i jordsmonnet brukes så til å lage isokart. Dette er detaljerte kart over isotopnivåene i ulike områder. Kartene lages ved å kombinere klassisk romlig statistikk ved hjelp av Krigings metode og GEMAS datasett fra jordprøvene. Krigings metode er en kjent internasjonal interpolasjonsmetode som brukes til å lage et kart som predikerer isotopverdiene i hele landskapet, og ikke bare i de områdene jordprøvene er tatt [63]. Isokartene kan presenteres pedagogisk ved å vise isotopnivåenes høye og lave verdier i form av farger. For eksempel kan blå farge vise lav forekomst og rød farge vise høy forekomst av gitte isotoper. Enkelte kart markerer også områdene der jordprøvene er hentet ut slik at man får et inntrykk av hvor stor del av kartet som er et resultat av regresjonsanalysen, og hvor stor del som er faktiske målte verdier. [63].

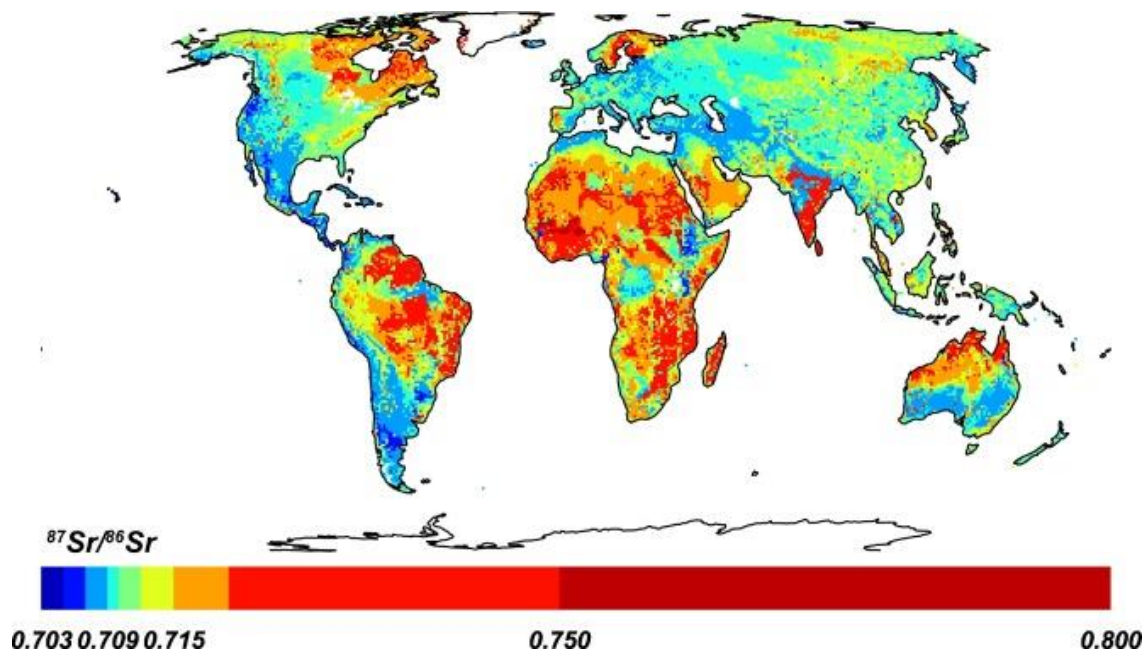
Isotopene i berggrunnen og i jordsmonnet er som regel samstemte. Unntak sees i områder direkte knyttet til industri, tett bebodde områder, og områder der vær og vind påvirker jordsmonnet. For eksempel påvirkes kystlinjer av mye sjøsprøyt, og isbreer og vind bærer med seg støv og jord som ikke nødvendigvis stemmer med berggrunnen under. Ved variasjon av isotopnivåer vurderes disse unntakene som mulige forklaring på variasjonene [63].



Figur 8: Isokart som viser sannsynlige isotopverdier av strontium i Europa. Illustrasjonen er hentet fra Hoogewerff et al. [63].

Områder som er godt kartlagt og områder hvor man mangler informasjon.

Bataille et al [7] har samlet datasett til over 17 000 isotopanalyser av strontium og har laget et isokart som viser bilde av hele verdens Sr-verdier. Det vil være teoretisk mulig å sammenligne isotopverdier funnet i emaljen til et uidentifisert lik med alle innhentede isotopverdier i hele verden. Hvorvidt dette er nyttig kan diskuteres da dette er kostbart og det er store datamengder som skal sammenlignes. En kombinasjon av andre medisinske, tekniske og/eller taktiske opplysninger, vil imidlertid kunne gi en indikasjon på hvor i verden man bør fokusere søket, også kan man vurdere funnene fra isotopanalysen opp mot mer avgrensede landområder. Det varierer også i stor grad hvor god kartleggingen av isotoper har vært i verden, slik at man i enkelte områder har større usikkerhet knyttet til bruken av isotopanalyser.



Figur 9: Viser kart etter regresjonsanalyse av alle innsamlede data. Med andre ord er dette et kart som viser forutsigbare isotopverdier av strontium i verden Illustrasjonen er hentet fra Bataille et al. [7].

I følge Bataille et al [7] er Nord-Amerika og Europa godt kartlagt, og er såpass tettpakket med data at det påvirker den prediktive verdien til data fra mindre kartlagte områder. Ved regresjonsanalysen vil områder uten innsamlede isotopdata fylles etter hva man matematisk sett kan anta at isotopverdiene vil være der. Godt kartlagte områder vil på en måte ha større tyngde, og dra prediktive verdier fra mindre kartlagte områder nærmere disse kartlagte verdiene. Generelt sett er det minst data fra høyere breddegrader, ørken, steppeklime, tropiske strøk, våtmark og fjellområder. I tillegg er såkalte kratonske områder, det vil si gamle, stabile deler av tektoniske plater og deres sedimentærbasseng, dårlig kartlagt. Disse finnes for det meste i Afrika, Australia, Canada og Brasil. Det skal riktignok bare noen titalls til hundetalls isotopanalyser til fra disse områdene for å kunne gi et mye mer nøyaktig prediktivt isokart på verdensbasis, så på sikt er dette et realistisk mål [7].

Det arbeides fremdeles med å utbedre og kartlegge isokart i verden både via vannprøver og jordsmonn. Det er i nyere tid kartlagt data for strontiumisotopene $\text{Sr}^{87}/\text{Sr}^{86}$ fra Peru der områder med høyland ble inkludert [8], samt i flere artikler fra Mexico [10, 11]. Det er i tillegg essensielt for et fremtidig isokart at det er tatt flest mulig prøver fra flest mulig forskjellige steder for å få frem lokale variasjoner. Man trenger også prøver fra ulike lokale geologiske formasjoner, for eksempel at man har tatt prøver fra både dalbunner og fjelltopper slik at man dekker alle steder mennesker kan ha oppholdt seg [8]. Flere studier konkluderer

med at det er store lokale variasjoner, men at hver enkeltstudie er et lite bidrag til et fremtidig isokart for verden [8, 9]. Bowen et al kommenterer også viktigheten av tverrfaglig og internasjonalt samarbeid og at store datasett blir nødvendig for å optimalisere isokart i fremtiden [64].

Tidligere bruk av isotopanalyser i identifiseringsarbeid

Vi har funnet noen vitenskapelige artikler der konkrete isotopanalyser har vært brukt til identifiseringsøyemed. For eksempel er oksygen kartlagt via vannprøver fra Mexico, og er brukt til identifisering av lik ved analyse av blant annet emalje [9, 47]. En av de nyeste artiklene vi har funnet, er fra Brasil der oksygenisotoper og emaljeprøver ble brukt til identifisering av lik, og studien konkluderer med at isotoper kan brukes innen rettsodontologi [12]. I Island ble det også gjort en multi-isotop-studie der blant annet strontium, bly og oksygen ble undersøkt i emalje og brukt til identifisering [31].

I flere artikler kommenteres det at deres prøver fra både berggrunn og drikkevann er en viktig bidragsyter til å identifisere en person som blir funnet et annet sted enn fødested [8, 9, 46].

Hvor utføres analysene?

Selve isotopanalysen må utføres i et laboratorium, som i litteraturen for det meste har vært knyttet til et universitet. Eksempelvis har NTNU Vitenskapsmuseet/Nasjonallaboratoriet for datering i Norge mulighet for isotopanalyser av karbon. Dorothy Garrod Laboratory ved Universitetet i Cambrige i Storbritannia er et eget laboratorium for isotopanalyse [65, 66]. Florida International University i USA har også eget laboratorium for stabile isotoper, kalt Stable Isotope Laboratory (SIL), der de analyserer både karbon, nitrogen, hydrogen og oksygen [67].

Isokartene kan lages av andre laboratorier basert på publiserte resultater av isotopanalysene. I studien fra Bartelink et al [43] er det IsoForensic, et selskap innen arkitektur- og ingeniørrelatert industri i Salt Lake City i USA, som har utført både isotopanalyser og laget isokart basert på analysene.

Isdalskvinnen

Det var store forventninger om at man skulle finne ut mer om Isdalskvinnen høsten 2016 etter at flere av tennene hennes fra obduksjonen i 1970 ble funnet frem igjen fra kjelleren på Haukeland universitetssykehus. Daværende leder for ID-gruppen i Kripos, Per Angel, hadde liten tro på at DNA-profilen ville gi ny informasjon, all den tid man ikke visste mer om hvor man skulle lete etter hennes slektninger. Derfor ble de, på den tiden unormale isotopanalysemetodene, satt i gang på Folkehelseinstituttet. Har dette gitt resultater og hvor verdifulle er i så fall funnene? [68]

I BBCs podcast fra 2018, som ble laget i samarbeid med NRK, forsøker man å finne ut hvem Isdalskvinnen var ved å gå ut internasjonalt. Bilder av fingeravtrykkene eksisterer fremdeles, sammen med vevsblokker fra blant annet lever og milt, røntgenbilder samt begge kjever med flere tilhørende og bevarte tenner. I 1970 ble det ikke tatt DNA-prøve av Isdalskvinnen fordi slik teknologi ikke var utviklet på den tiden, men dette var mulig å utføre da materialet ble tatt frem igjen i 2016 [2]. DNA-analyser av nyre og milt ble utført ved Oslo Universitetssykehus ved Avdeling for genetisk slektskap og identifisering av Beate Schönberger og Marguerethe Stenersen [69]. En slik DNA-profil kan si noe mer om hvor man kommer fra ved bruk av en utvidet analyse av mitokondrielt DNA. Mitokondrielt DNA ligger lagret i alle mitokondriene våre, små elementer i alle kroppens celler, og arvet i sin helhet fra mor [70]. Vevsblokkene ble derfor sendt videre til det rettsmedisinske institutt ved Universitetet i Innsbruck i Østerrike. Der kunne Professor Parson bekrefte at Isdalskvinnens mor er av europeisk opprinnelse [2].

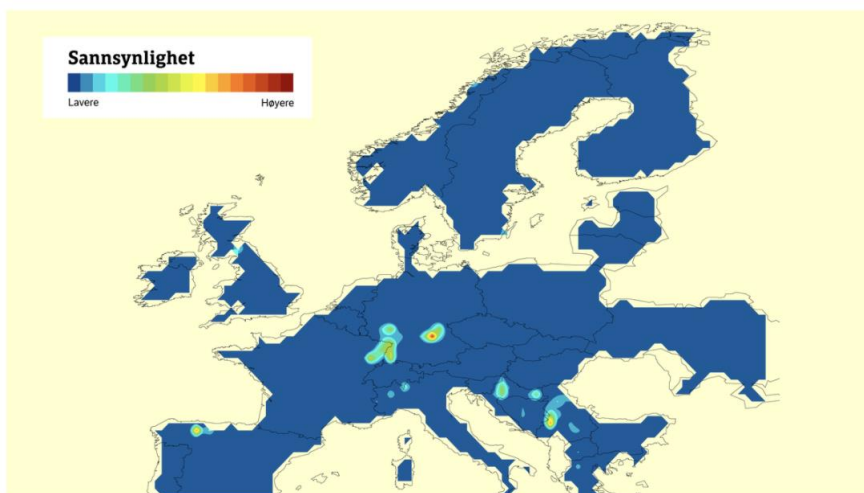
Det ble hentet emaljeprøver fra tre av Isdalskvinnens tenner; en tann som ble dannet i barneårene og to tenner som ble dannet i tenårene. Prøvene ble tatt med til Kripos for undersøkelse. En kjemiker utførte isotopanalyser med fokus på strontium- og oksygenisotoper. Analysen var teknisk vellykket. Alle de fire isotopene til strontium (Sr84, Sr86, Sr87 og Sr88) ble påvist i væsken. Samme analyse ble utført for oksygenisotoper. De ga mer informasjon om drikkevannskildene som Isdalskvinnen hadde brukt i oppgitte år.

Bruken av isokart for å finne Isdalskvinnens opphav

Resultatene fra isotopanalysen ble sendt og tolket av professor og ekspert på isotoper Jurian Hoogewerff ved Universitetet i Canberra, Australia. Analysen ble gjort uavhengig av annen informasjon i saken om hvor Isdalskvinnen kan være fra [2]. Vi antar imidlertid at analysen ble begrenset til et isokart for Europa, selv om det ikke nevnes direkte i BBCs podcast, siden mitokondrielt DNA som nevnt indikerte at Isdalskvinnens mor var av europeisk opprinnelse.

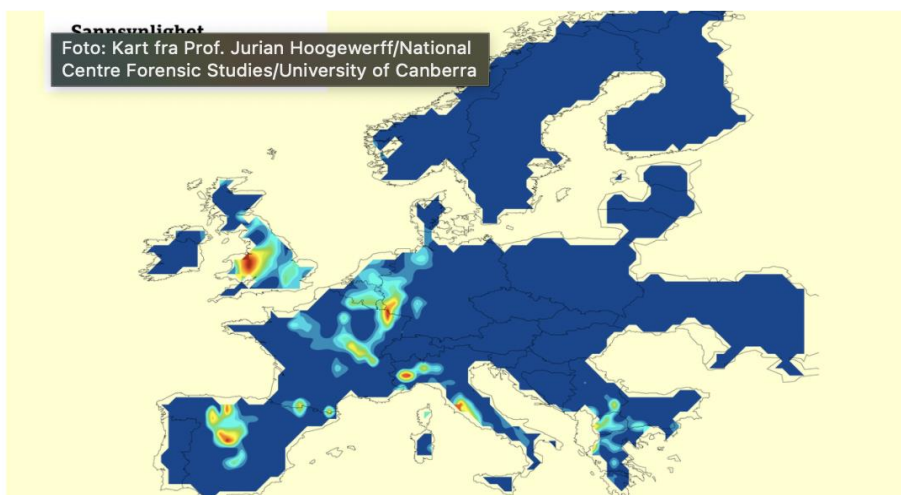
Hoogewerff vurderte isokart av oksygen og strontium opp mot resultatene fra isotopanalysen, og kunne dermed finne geografiske områder med overlappende isotopverdier. Ved å benytte isotoper fra de spesifikke tenner og områder i emaljen som beskrevet tidligere i artikkelen, kunne han slik lage kart over områder hvor Isdalskvinnen kan ha oppholdt seg i barne- og ungdomså. Denne informasjonen ble så vurdert opp mot all annen tilgjengelig teknisk og taktisk informasjon [6].

Konklusjonen var at Isdalskvinnen mest sannsynlig hadde oppholdt seg sør-øst i Tyskland ved ca. 4 års alder. Nedenfor vises et bilde av isokartet. Dette er gradert i farger etter sannsynlighet, der mørk rødfarge viser områder med høy sannsynlighet og mørk blåfarge viser områder med lav sannsynlighet for at Isdalskvinnen har oppholdt seg ved den gitte alder.



Figur 10: Isokart over Europa som viser sannsynlig oppholdssted for Isdalskvinnen i barneårene. Figuren er hentet fra NRK-artikkelen som omtalte saken [6].

Kart over hvor Isdalskvinnen kan ha oppholdt seg ved ca. 14 års alder avviker litt fra kartet ved 4 års alder. Isokartet viser at Isdalskvinnen trolig har flyttet på seg i tenårene, fordi isotopforholdet i den molaren som ble undersøkt, er forskjellig fra tanna som ble dannet ved rundt 4 års alder. I artikkelen står det ikke spesifikt hvilken tann som ble analysert, men basert på det vi har lært av å skrive denne oppgaven vil vi anta at det er en visdomstann siden den oppgitte alderen samsvarer med mineraliseringstid for visdomstenner (ca. 13-14 års alder). I isokartet ser vi at det ved Isdalskvinnens 14 års alder er flere geografiske områder som er sannsynlig. Det kreves derfor kombinasjon av ulik teknisk og taktisk informasjon i tillegg til isotopanalysene for å kunne trekke en slutning [6].



Figur 11: Isokart over Europa som viser sannsynlig oppholdssted for Isdalskvinnen i ungdomsårene. Figuren er hentet fra NRK-artikkelen som omtalte saken [6].

For eksempel viste andre taktiske opplysninger om Isdalskvinnen basert på analyser av skrift og språk i hennes notater at hun mest sannsynlig har fått fransk skriftopplæring. Dermed kan man utelukke Spania og Storbritannia som oppholdssted i barneårene og snevre inn mot områder i grensen mellom Frankrike og Tyskland [6].

Begrensninger og feilkilder ved isotopanalyser

Det er flere artikler som i analysene kategoriserer individer i grupper, og skiller derfor ikke resultatene på individnivå [8, 9, 31, 42]. Eksempelvis skilles det mellom «lokal» eller «ikke-lokal» («tilflyttende innbyggere»). I studiene analyseres store grupper med uidentifiserte individer, for eksempel fra en massegrav, men det lages ikke et isokart for hvert individ

basert på hver isotopanalyse. I stedet lages et isokart for området likene ble funnet i ut fra prøver tatt fra jordsmonnet eller drikkevannet. Isotopanalysesvaret fra hvert individ sammenlignes videre med isokartet, og individene grupperes ut fra om isotopanalysen stemmer overens med isokartet eller ikke. Individene som har isotopverdi som stemmer med isokartet defineres som «lokale» og de andre plasseres i gruppen «ikke-lokale». Med andre ord finner man ikke ut geografisk opphavssted til hvert individ, og resultatet blir mindre presist [8, 9, 31, 42].

Det er usikkerhet knyttet til verdien av å analysere oksygenisotoper. Mengden oksygen i kroppen som er tatt opp via inntak av mat og drikke avhenger av hvor mye man drikker (spesielt H₂O), hvilken mat som er spist og energiforbruket til personen. Disse faktorene kan være en feilkilde ved bruk av oksygen for å bestemme opphavssted. Som nevnt tidligere i oppgaven påvirkes også regnvannet av miljøet, samtidig som metabolske faktorer som kroppsstørrelse, helsetilstand, aktivitetsnivå, stressnivå og mengde vann man har i dietten. Kulturelle forskjeller er også et økende problem. Både forflytning av mennesker, import av mat og drikke og kulturelle forskjeller i tilberedningsmåter kan påvirke isotopmengden av oksygen i vevet. Alle disse faktorene må tas i betraktning når man skal vurdere opphavssted til et ukjent individ [9].

Vi lever i en globalisert verden i dag. Dette medfører at mange mennesker flytter på seg over store avstander. Siden tenner dannes i barneårene, er det interessant å se på hvor stabilt barn normalt lever. Hvor sannsynlig er det at barn flytter de første 18 årene av livet og hvor flytter de hyppigst? I 2019 utgjorde personer under 18 år 21,1% av Norges befolkning, ifølge Statistisk sentralbyrå (SSB) [71]. De fleste i befolkningen flytter bare korte avstander og hyppigst innad i samme kommune. Totalt i 2021 foregikk 64% av flyttinger innad i Norge innad i samme kommune, som ifølge SSB er vanlig [72]. Fra et rettsodontologisk perspektiv er dette positivt med tanke på at isotopverdiene ikke har stor grad av variasjon innenfor små områder. For barn er det imidlertid de yngste barna i aldersgruppen 0-5 år som flytter mest, og det er også her tannannelsen skjer i størst grad [72]. Fra 0-15 år er nettoinnflytting i Norge, der man ikke medregner de som flytter innenfor samme fylke, 3621 personer i 2021 og 4345 personer i 2019. Nettoinnflytting er her definert som all flytting innad i landet og inn og ut av landet. Altså vil det være en del barn som flytter i barneårene, kanskje såpass store avstander at det kan ha betydning for isotopverdien i tennene, men dette er ikke forsket på

[73]. Cavazzuti et al mener barn flytter såpass lite at isotopverdiene i tennene deres derfor kan regnes som tilnærmet lik det man finner på lokalt fødested [30].

Økende import av mat og en mer globalisert verden er vanskelig å stanse. Dette betyr at matvarer fra hele verden forflyttes rundt. I Norge i dag er forsyningsgraden bare 40%, som betyr at vi er helt avhengig av utenlandsk import [74]. Mat fra utlandet betyr også at isotoper fra opphavssted inkorporeres i for eksempel kornet og grønnsakene på grunn av grunnvannet og jordsmonnet som brukes for å dyrke frem maten. Dette er ikke et nylig oppdaget problem. I en studie gjort på Island [31] fokuserer de blant annet på diettvaner. Det er overraskende at det allerede i middelalderen foregikk stor import av varer som mel, vin, salt, eddik og korn fra Tyskland til Island. De fleste av disse varene ble ikke vanlig å spise før på 1900-tallet for de fleste folk. Det er usikkert hvor mye import og handel påvirker funnene, men i studien fra Island ble likevel alle individene bestemt til å være lokale mennesker fra Island, enten fra innland eller kysten. Konklusjonen ble basert på en samlet vurdering av alle fire grunnstoffene, strontium, oksygen, karbon og bly, som viser viktigheten av multi-isotopstudier [31].

Vi har funnet flere forskjellige prosedyrer for uthenting av prøvemateriale. Det er dermed ikke konsensus for hvordan en tann skal forbehandles, og metodene kan ikke direkte sammenlignes med hverandre. Det er usikkert hvilken betydning dette har for resultatene i en isotopanalyse, og er et felt som trenger mer forskning og standardisering i fremtiden. Forurensing av prøvemateriale kan forekomme i laboratoriet, både som følge av menneskelige feil og som følge av forskjellige prosedyrer. Prøvene som hentes ut veier så lite som noen mikrogram, og følgelig vil de være sårbare for forurensning hvis utstyret som benyttes ikke rengjøres helt før utrensning. Støv og andre små partikler kan også kontaminere prøvene, men i et laboratorium bør man kunne forvente at disse forholdene er under kontroll.

Til slutt må det nevnes at isotopanalyser alene har meget begrenset verdi ved identifisering av et ukjent lik. Saken om Isdalskvinnen har imidlertid vist at det kan være nyttig å bruke isotopanalyser av tannemalje for å hente mer informasjon om personen når primærmetodene ikke kan benyttes. Det er likevel ikke slik at en isotopanalyse kan gi et endelig svar på identitet. Den fungerer mer som en liten brikke i et stort puslespill. Om isotopanalysene skal ha noen hensikt, er man altså avhengig av en rekke andre sekundærmetoder for identifisering, som medisinske, tekniske og/eller taktiske opplysninger. I saken om Isdalskvinnen var mange

slike metoder allerede gjennomført, så der kunne isoptoanalysen bidra til utelukkning av enkelte områder og bringe oss et godt stykke nærmere sannheten om Isdalskvinnen.

Oppsummering

Vi har i denne masteroppgaven forsøkt å belyse en hittil lite brukt teknikk som kan ha stor verdi innen rettsodontologi. Analyser av isotoper kan gi oss ny informasjon som primærmetodene ikke gjør. Informasjon om opphavssted og flytting i barndom gjør det mulig å innsnevre identifiseringssøket, og tilleggsinformasjon kan vurderes opp mot geografiske regioner. Det er uklart hvor mange land som har kartlagt isotopnivåene til de valgte grunnstoffene samt publisert disse data. Kombinering av resultatene fra isotopanalysene av flere grunnstoff gir et mer konkret resultat, men er ikke alene nok til å bestemme opphavssted. Isotopanalyser av emalje kan sammen med andre tekniske og taktiske opplysninger bidra til identifisering. Internasjonal standardisering av prosedyrer ved uthenting av prøvematerialer og forbehandling før isotopanalysene utføres, er ønskelig for å kunne eliminere feilkilder relatert til prosedyrer i lab.

Etterord

Vi ønsker å rette en stor takk til major Simen E. Kopperud fra Forsvarets Sanitet (FSAN) for veiledning og støtte. Førsteamanuensis Sigrid I. Kvaal bidro også med gode råd. Forøvrig fortjener alle geologer og andre forskere som kartlegger isotopverdier verden over også en stor applaus!

Referanser

1. Zwaaid Kolstad, H. *Løser 40 år gammelt mysterium med odontologiske verktøy*. Det Odontologiske Fakultet; 2018. Tilgjengelig fra: <https://www.odont.uio.no/iko/forskning/aktuelt/aktuelle-saker/2018/prover-a-lose-40-ar-gammelt-mysterium-med-odontolo.html>
2. Higruff, M og McCarthy, N. Podcast; *Death in Ice Valley*, BBC News; 2018-2021, Tilgjengelig fra: <https://www.bbc.co.uk>.
3. Bowers, C.M., *Forensic dental evidence : an investigator's handbook*. Elsevier Academic Press, Amsterdam; 2004.
4. Higruff, M, et al., *Gåten i Isdalen*, NRK Radio; 2016-2019. Tilgjengelig fra: https://radio.nrk.no/podkast/gaaten_i_isdalen/sesong/1 .
5. Alexander Bentley, R., *Strontium Isotopes from the Earth to the Archaeological Skeleton: A Review*. Journal of archaeological method and theory, 2006. **13**(3): p. 135-187.
6. Bye Skille, Ø., et al., *Kjemiske analyser av Isdalskvinnen peker mot Tyskland og Frankrike*. NRK; 2017. Tilgjengelig fra <https://www.nrk.no/dokumentar/kjemiske-analyser-av-isdalskvinnen-pekert-ty-skland-og-frankrike-1.13521994>.
7. Bataille, C.P., et al., *Advances in global bioavailable strontium isoscapes*. Palaeogeography, palaeoclimatology, palaeoecology, 2020. **555**: p. 109849.
8. Washburn, E., et al., *A strontium isoscape for the conchucos region of highland peru and its application to andean archaeology*. PLoS One, 2021. **16**(3): p. e0248209-e0248209.
9. Reynaga, D.K.M., et al., *Building Mexican isoscapes: Oxygen and hydrogen isotope data of meteoric water sampled across Mexico*. Data in brief, 2021. **36**: p. 107084-107084.
10. Pacheco-Forés, S.I., Gordon, G.W., og Knudson, K.J., *Expanding radiogenic strontium isotope baseline data for central Mexican paleomobility studies*. PloS one, 2020. **15**(2): p. e0229687-e0229687.
11. Pacheco-Forés, S.I., et al., *Migration, violence, and the "other": A biogeochemical approach to identity-based violence in the Epiclassic Basin of Mexico*. Journal of anthropological archaeology, 2021. **61**: p. 101263.
12. de Oliveira Mascarenhas, R., et al., *Building an isoscape based on tooth enamel for human provenance estimation in Brazil*. Forensic Sci Int, 2022. **330**: p. 111109-111109.
13. Bryhni, I. Store norske leksikon. *C-14-datering*. Store norske leksikon; 2022. Tilgjengelig fra: <https://snl.no/C-14-datering>.
14. Kofstad, P. og Pedersen, B. Store norske leksikon. *Bly*. Store norske leksikon; 2021. Tilgjengelig fra: <https://snl.no/bly>.
15. Leggett, S., et al., *Multi-tissue and multi-isotope ($\delta^{13}C$, $\delta^{15}N$, $\delta^{18}O$ and $87/86Sr$) data for early medieval human and animal palaeoecology*. Ecology, 2021. **102**(6): p. e03349-n/a.

16. Scott Lacombe, R.J. og Bazinet, R.P., *Natural abundance carbon isotope ratio analysis and its application in the study of diet and metabolism*. Nutrition reviews, 2021. **79**(8): p. 869-888.
17. Eerkens, J.W., Berget, A.G., og Bartelink, E.J., *Estimating weaning and early childhood diet from serial micro-samples of dentin collagen*. Journal of archaeological science, 2011. **38**(11): p. 3101-3111.
18. Pedersen, B. og Keeping, D., *Generell kjemi for universiteter og høyskoler*. 2. utgave. Univeristetsforlaget, Oslo; 1998.
19. Sjøberg, N.O., *Kort og godt kjemi: med organisk kjemi og cellekjemi*. 7. utgave. Vett & Viten, Høvik; 2013.
20. West, J.B., et al., *Isoscapes : Understanding movement, pattern, and process on Earth through isotope mapping*. 2010, Springer Netherlands : Imprint: Springer: Dordrecht.
21. NicDaéid, N. og Buchannan, H., *Encyclopedia of Forensic Sciences*. 2. utgave; 2013.
22. Universitetet i Oslo. Kjemisk institutt. *Periodesystemet Karbon*. Oslo: UiO; 2022. Tilgjengelig fra: <https://www.periodesystemet.no/grunnstoffer/karbon/index.html>.
23. Staddon, P.L., *Carbon isotopes in functional soil ecology*. Trends Ecol Evol, 2004. **19**(3): p. 148-154.
24. Pedersen, B. Store norske leksikon. *oksygen*. Store norske leksikon; 2019. Tilgjengelig fra: <https://snl.no/oksygen>.
25. Goldblatt, C., Lenton, T.M., og Watson, A.J., *Bistability of atmospheric oxygen and the Great Oxidation*. Nature, 2006. **443**(7112): p. 683-686.
26. Berner jr., E. og Aarnes, H. Store norske leksikon. *fotosyntese*. Store norske leksikon ; 2022. Tilgjengelig fra: <https://snl.no/fotosyntese>.
27. Askheim, S. Store norske leksikon. *paleoklimatologi*. Store norske leksikon; 2018. Tilgjengelig fra: <https://snl.no/paleoklimatologi>.
28. Coplen, T.B., Herczeg, A.L., og Barnes, C., *Isotope Engineering—Using Stable Isotopes of the Water Molecule to Solve Practical Problems*, in *Environmental Tracers in Subsurface Hydrology*, P.G. Cook and A.L. Herczeg, Editors. 2000, Springer US: Boston, MA. p. 79-110.
29. Daux, V., et al., *Oxygen Isotope Composition Of Human Teeth And The Record Of Climate Changes In France (Lorraine) During The Last 1700 Years*. Climatic change, 2005. **70**(3): p. 445-464.
30. Cavazzuti, C., et al., *Human mobility in a Bronze Age Vatya 'urnfield' and the life history of a high-status woman*. PloS one, 2021. **16**(7): p. e0254360-e0254360.
31. Walser, J.W., et al., *At the world's edge: Reconstructing diet and geographic origins in medieval Iceland using isotope and trace element analyses*. Am J Phys Anthropol, 2020. **171**(1): p. 142-163.
32. Universitetet i Oslo. Kjemisk institutt. *Periodesystemet Bly*. Oslo: UiO; 2022. Tilgjengelig fra: <https://www.periodesystemet.no/grunnstoffer/bly/index.html>.
33. Encinar, J.R. og Moldovan, M., *Lead*. 2004. p. 56-63.
34. Blum, J.D. og Erel, Y., *Radiogenic Isotopes in Weathering and Hydrology*. 2003. p. 365-392.
35. Aabakken, L. og Waaler, B. Store norske leksikon. *fordøyelsessystemet*. Store norske leksikon; 2020. Tilgjengelig fra: <https://sml.snl.no/ford%C3%B8yelsessystemet>.

36. Babae, S.H., et al., *Sentinel lymph node mapping in colorectal cancers with radioactive tracer; is it an efficient method?* J Cancer Res Ther, 2020. **16**(Supplement): p. S160-164.
37. Pellettieri, J. og Alvarado, A.Š., *Cell turnover and adult tissue homeostasis: From humans to planarians.* Annu Rev Genet, 2007. **41**(1): p. 83-105.
38. Kamenov, G.D. og Curtis, J.H., *Using Carbon, Oxygen, Strontium, and Lead Isotopes in Modern Human Teeth for Forensic Investigations: A Critical Overview Based on Data from Bulgaria.* J Forensic Sci, 2017. **62**(6): p. 1452-1459.
39. Holck, P. Store norske leksikon. *beinvev*. Store norske leksikon; 2021. Tilgjengelig fra: <https://sml.snl.no/beinvev>.
40. Raade, G. Store norske leksikon. *apatitt*. Store norske leksikon; 2021. Tilgjengelig fra: <https://snl.no/apatitt>.
41. Hedges, R.E.M., et al., *Collagen turnover in the adult femoral mid-shaft: Modeled from anthropogenic radiocarbon tracer measurements.* Am. J. Phys. Anthropol, 2007. **133**(2): p. 808-816.
42. Montgomery, J., Evans, J.A., og Cooper, R.E., *Resolving archaeological populations with Sr-isotope mixing models.* Applied geochemistry, 2007. **22**(7): p. 1502-1514.
43. Bartelink, E.J. og Chesson, L.A., *Recent applications of isotope analysis to forensic anthropology.* Forensic Sci Res, 2019. **4**(1): p. 29-44.
44. Nanci, A. og Ten Cate, A.R., *Ten Cate's oral histology : development, structure, and function.* Ninth edition. ed. Oral histology. 2018, St. Louis, Missouri: Elsevier.
45. Schulting, R.J., et al., *Further isotopic evidence for seaweed-eating sheep from Neolithic Orkney.* Journal of archaeological science, reports, 2017. **11**: p. 463-470.
46. Podlesak, D.W., et al., *$\delta^{2}H$ and $\delta^{18}O$ of human body water: a GIS model to distinguish residents from non-residents in the contiguous USA.* Isotopes Environ Health Stud, 2012. **48**(2): p. 259-279.
47. Moreiras Reynaga, D.K., et al., *Residential patterns of Mexica human sacrifices at Mexico-Tenochtitlan and Mexico-Tlatelolco: Evidence from phosphate oxygen isotopes.* Journal of anthropological archaeology, 2021. **62**: p. 101296.
48. Ventresca Miller, A., et al., *Sampling and Pretreatment of Tooth Enamel Carbonate for Stable Carbon and Oxygen Isotope Analysis.* J Vis Exp, 2018. **2018**(138).
49. Reade, H., et al., *Tooth enamel sampling strategies for stable isotope analysis: Potential problems in cross-method data comparisons.* Chemical geology, 2015. **404**: p. 126-135.
50. Balasse, M., et al., *The Seasonal Mobility Model for Prehistoric Herders in the South-western Cape of South Africa Assessed by Isotopic Analysis of Sheep Tooth Enamel.* Journal of archaeological science, 2002. **29**(9): p. 917-932.
51. Tacail, T., et al., *Assessing human weaning practices with calcium isotopes in tooth enamel.* Proc Natl Acad Sci U S A, 2017. **114**(24): p. 6268-6273.
52. Suga, S., et al., *A Comparative Study of Disturbed Mineralization of Rat Incisor Enamel Induced By Strontium and Fluoride Administration.* Adv Dent Res, 1987. **1**(2): p. 339-355.

53. Balasse, M., *Reconstructing dietary and environmental history from enamel isotopic analysis: time resolution of intra-tooth sequential sampling*. International Journal of Osteoarchaeology, 2002. **12**(3): p. 155-165.
54. Tafforeau, P., et al., *Nature of laminations and mineralization in rhinoceros enamel using histology and X-ray synchrotron microtomography: Potential implications for palaeoenvironmental isotopic studies*. Palaeogeography, palaeoclimatology, palaeoecology, 2007. **246**(2): p. 206-227.
55. Balasse, M., *Potential biases in sampling design and interpretation of intra-tooth isotope analysis*. Int. J. Osteoarchaeol, 2003. **13**(1-2): p. 3-10.
56. Zazzo, A., M. Balasse, and W.P. Patterson, *High-resolution $\delta^{13}\text{C}$ intratooth profiles in bovine enamel: Implications for mineralization pattern and isotopic attenuation*. Geochimica et cosmochimica acta, 2005. **69**(14): p. 3631-3642.
57. Blumenthal, S.A., et al., *Stable isotope time-series in mammalian teeth: In situ $\delta^{18}\text{O}$ from the innermost enamel layer*. Geochimica et cosmochimica acta, 2014. **124**: p. 223-236.
58. Tacail, T., et al., *Spatial distribution of trace element Ca-normalized ratios in primary and permanent human tooth enamel*. Sci Total Environ, 2017. **603-604**: p. 308-318.
59. Jackson, S.E. og Günther, D., *The nature and sources of laser induced isotopic fractionation in laser ablation-multicollector-inductively coupled plasma-mass spectrometry*. Journal of analytical atomic spectrometry, 2003. **18**(3): p. 205-212.
60. Copeland, S.R., et al., *Strontium isotope ratios ($^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$) of tooth enamel: a comparison of solution and laser ablation multicollector inductively coupled plasma mass spectrometry methods*. Rapid Commun. Mass Spectrom, 2008. **22**(20): p. 3187-3194.
61. Laffoon, J.E., et al., *Isotopic evidence for anthropogenic lead exposure on a 17th/18th century Barbadian plantation*. Am J Phys Anthropol, 2020. **171**(3): p. 529-538.
62. Uggerud, E. og Holtebekk, T. Store norske leksikon. *massespektrometer*. Store norske leksikon; 2018. Tilgjengelig fra: <https://snl.no/massespektrometer>.
63. Hoogewerff, J.A., et al., *Bioavailable $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ in European soils: A baseline for provenancing studies*. Sci Total Environ, 2019. **672**: p. 1033-1044.
64. Bowen, G.J., West, J.B., og Hoogewerff, J., *Isoscapes: Isotope mapping and its applications*. Journal of geochemical exploration, 2009. **102**(3): p. v-vii.
65. De nasjonale forskningsetiske komiteene. *Henvendelse angående prøvetaking av skjelettmateriale i prosjektet «Vikingtidens livshistorier» (2018/364)*. Oslo; 2018. Tilgjengelig fra: <https://www.forskningsetikk.no/om-oss/komiteer-og-utvalg/skjelettutvalget/uttalelser/henvendelse-angaende-provetaking-av-skjelettmateriale-i-prosjektet-vikingtidens-livshistorier-2018364/>.
66. University of Cambridge, Department of Archaeology. *Dorothy Garrod Laboratory for Isotopic Analysis*. Cambridge; 2022. Tilgjengelig fra: <https://www.arch.cam.ac.uk/research/laboratories/garrod>.
67. Florida International University, Institute of Environment. *Stable Isotope Laboratory*. Florida; 2022. Tilgjengelig fra: <https://environment.fiu.edu/facilities-research-groups/stable-isotope-laboratory/>.

68. Bye Skille, Ø., et al., *Kripos vil bruke helt nye metoder på tennene til Isdalskvinnen*, NRK; 2016. Tilgjengelig fra: <https://www.nrk.no/dokumentar/kripos-vil-kjemisk-analysere-isdalskvinnens-tenner-1.13205741>.
69. Hansen, S., et al., *DNA-gjennombrudd i Isdalssaken*, NRK; 2016. Tilgjengelig fra: <https://www.nrk.no/dokumentar/dna-gjennombrudd-i-isdalssaken-1.13205757>.
70. Børresen-Dale, A.-L. Store norske leksikon. *Mitokondriell arv*. Store norske leksikon; 2021. Tilgjengelig fra: https://sml.snl.no/mitokondriell_arv.
71. Statistisk sentralbyrå. *Barn og unge i befolkningen. Færre barn og unge i Norge*. SSB; 2019. Tilgjengelig fra: <https://www.ssb.no/a/barnogunge/2019/bef/>.
72. Høydahl, E. Statistisk sentralbyrå. *De fleste flytter kort*. SSB; 2022. Tilgjengelig fra: <https://www.ssb.no/befolkning/flytting/statistikk/flyttinger/artikler/de-fleste-flytter-kort>.
73. Statistisk sentralbyrå. *05539: Alle flyttinger. Innenlandske flyttinger og flyttinger fra og til utlandet, etter kjønn og alder (F) 2011-2021*, Statistisk sentralbyrå ; 2022. Tilgjengelig fra: <https://www.ssb.no/statbank/table/05539/>.
74. Norsk landbrukssamvirke. *I dag er Norge helt avhengig av importert mat*. Norsk landbrukssamvirke, Oslo; 2018. Tilgjengelig fra: <https://www.landbruk.no/internasjonalt/i-dag-er-norge-helt-avhengig-av-importert-mat/>.