

ПРИМЕНЕНИЕ ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ПРИ АНАЛИЗЕ АРХЕОЛОГИЧЕСКОЙ КЕРАМИКИ

Хорькова А.Н.¹, Домрачева Д.В.¹, Данилов Д.А.¹, Киселева Д.В.², Дубягина Е.В.³

¹УрФУ им. Б.Н. Ельцина, г. Екатеринбург, *arina.khorkova@gmail.com*

²Институт геологии и геохимии УрО РАН, г. Екатеринбург

³Казахский национальный университет имени аль-Фараби, г. Алматы, Республика Казахстан

Изучение органических остатков на внешней и внутренней поверхности археологической керамической посуды может нести ценную информацию об использовании древними людьми посуды, а также об их образе жизни, диете, кулинарных практиках [Craig, 2013]. Липиды (жиры, воски и смолы) могут сохраняться на протяжении длительного времени, поскольку они обладают гидрофобными свойствами, то есть не растворяются в воде. Такая стойкость липидов приводит к их относительно более высокой сохранности по сравнению с другими биомолекулами, такими как ДНК, протеины или углеводы [Dunne, 2017]. Липиды подразделяются на три больших класса: триглицериды, фосфолипиды и стеролы. Триглицериды являются главной формой нахождения липидов в живых организмах и рационе человека и состоят из молекулы глицерола, соединенной с тремя жирными кислотами. В состав жирных кислот входят карбоксильные группы ($-\text{COOH}$) с одного края, и метильные группы ($-\text{CH}_3$) с противоположного. Жирные кислоты отличаются друг от друга по двум важным параметрам: длине углеродной цепочки и степени ненасыщенности [Dunne, 2017].

Самыми распространенными насыщенными жирными кислотами как животного, так и растительного происхождения являются соединения с неразветвленной углеродной цепочкой, содержащие 16 и 18 атомов углерода – пальмитиновая ($\text{C}_{16:0}$) и стеариновая ($\text{C}_{18:0}$) кислоты. Именно они чаще всего сохраняются в органических остатках, поскольку ненасыщенные жирные кислоты довольно легко разрушаются [Dunne, 2017].

Необходимость исследования малых содержаний сохранившихся липидных компонентов в археологических образцах обуславливает разработку и применение подходящих методик экстракции, очистки и анализа методом газовой хроматографии с масс-спектрометрией (ХГ/МС) – метода, наиболее часто используемого для качественного и количественного анализа сложных органических смесей, в том числе и археологического происхождения [Regert, 2011].

В данной работе был изучен состав органических остатков археологической керамики методом ГХ/МС после кислотного метанолиза.

Объектом исследования послужил керамический материал, представленный фрагментами посуды саргаринского типа, обнаруженный во время археологических работ на территории Бозшакольского горно-металлургического комплекса (Казахстан). Археологические работы на территории памятника были проведены в 2007 году археологической экспедицией Карагандинского государственного университета имени Е.А. Букетова [Дубягина, 2017]. Археологами были обнаружены 10 объектов, охватывающих широкий хронологический диапазон от палеолита до рубежа эр, включая обширный керамический материал. По результатам технологического анализа можно сказать, что большинство сосудов использовались в быту и имеют жирный нагар на внешней и внутренней поверхности, следы бытового лощения, жирные прослойки в изломах [Дубягина, 2017].

Для выполнения анализа были взяты 4 образца археологической керамики. Перед анализом проводили ручное измельчение проб в яшмовых ступках. Навески проб обработали 5 см³ подкисленного метанола. Для лучшего протекания реакции метилирования пробы поместили в ультразвуковую ванну на 20 мин. Образцы были центрифугированы в течение 10 мин при 3000 об/мин. Раствор отделяли и сушили под азотом. Полученный экстракт растворили в гексане. Для лучшей экстракции метиловых эфиров в растворитель пробы поместили в ультразвуковую ванну на 20 мин. После этого полученные экстракты были центрифугированы в течение 10 мин при 3000 об/мин.

При выполнении работы были использованы газовый хроматограф Perkin Elmer Clarus 600 с масс-спектрометром Perkin Elmer Clarus 600T, капиллярная колонка Elite-5MS 30 м×250 мкм, лайнер с внутренним диаметром 4 мм. По программе температура термостата изменялась с 30 °С до 300 °С с изотермическим периодом 10 мин. Масс-спектрометр работал в режиме ионизации электронным ударом (70 эВ). Диапазон регистрации масс-спектров по величине m/z составил от 35 до 400 Да.

Идентификация пиков проведена с использованием встроенной библиотеки масс-спектров и

Таблица. Жирокислотный состав и отношения жирных кислот в исследованных образцах археологической керамики в сопоставлении с литературными данными [Пожидаев и др., 2017; Бабурина и др., 2018]

	C _{12:0} (L)	C _{14:0} (M)	C _{16:0} (P)	C _{18:0} (S)	P/S	P/M	P/L
Жирокислотный состав исследованных образцов археологической керамики							
PI S5 2	0.7	4.7	35.7	38.3	0.9	7.5	50.3
PI S2 30 1	0.3	2.4	35.1	51.9	0.7	14.7	130.4
PIII S 15 3	0.9	4.4	38.5	41.9	0.9	8.7	44.0
PIII S3 2	0.9	9.9	42.2	33.6	1.3	4.3	47.7
Жирокислотный состав современных жиров							
Козье молоко	3.4-4.8	11-12	26-34	7-11	3.3	2.6	7.3
Кобылье молоко	5.4-6.2	5.7-7.2	24-25	2-2.5	11.0	3.8	4.2
Верблюжье молоко	0.9-1.2	11-15	24-27	13-19	1.6	2.0	24.6
Овечьё молоко	3.7	10.5	25.7	14.3	1.8	2.4	6.9
Коровье молоко	3.6-4.5	9.5-11	25-32	12-15	2.1	2.8	7.0
Масло коровье	3.0-4.3	8-13	23-31	10-14	2.1	2.7	7.5
Молочный жир	2.7	12.4	15.3	6.0	2.6	1.2	5.7
Говяжий жир	0.9-1.2	3-3.2	25.5-27.5	24-15.5	1.1-1.6	8.0-9.2	22.9
Бараний жир	0.3-0.8	2.2-2.9	22.5-27	17.2-26	1.0-1.3	9.3-10.2	33.8-75.0
Свиной жир	0.2-0.7	1.4-1.5	25.1-27	16-17.2	1.7-1.9	16.7-19.3	38.6-125.5
Растительные масла	-	0.01-0.1	7.5-18.7	1.7-4.5	1.7-7.8	95-1150	-

Примечание: жирные кислоты: L – лауриновая, M – миристиновая, P – пальмитиновая, S – стеариновая.

литературных источников, а также собственной интерпретации масс-спектров.

По результатам хроматографического анализа было установлено присутствие в образцах насыщенных жирных кислот (C_{7:0} – C_{27:0}) и их изомеров. Также были обнаружены ненасыщенные жирные кислоты (C_{16:1ω9}, C_{18:1ω9}, C_{22:1ω13}, здесь ω обозначает место расположения углерода с двойной связью, если считать от метильного конца цепочки), оксикислоты, дикарбоновые кислоты и полиядерные ароматические углеводороды (нафталин, антрацен, пирен).

Ранее [Evershed et al., 2002; Пожидаев и др., 2017] было показано, что отношение массовых долей насыщенных жирных кислот P/S (пальмитиновой C_{16:0} и стеариновой C_{18:0}), P/M (пальмитиновой C_{16:0} и миристиновой C_{14:0}), P/L (пальмитиновой C_{16:0} и лауриновой C_{12:0}) может быть использовано для идентификации видовой принадлежности остатков жиров и масел в археологических материалах. Для оценки происхождения органических остатков мы рассчитали отношения кислот P/S, P/M и P/L (табл.).

При анализе данных табл. 1 можно сделать вывод об отсутствии в составе нагара керамики значимых количеств жиров растительного происхождения, поскольку они характеризуются большими значениями P/S и P/M. Более того, миристиновая кислота C_{14:0} содержится в достаточно больших количествах (2.4 – 9.9 %) в исследованных фрагментах керамики,

что характерно для животных жиров, поскольку в растительных маслах эта кислота практически отсутствует (0.01 – 0.1 %) [Пожидаев и др., 2017].

Полученные для керамик величины отношений жирных кислот могут свидетельствовать о происхождении органических остатков скорее от жвачных животных (крупный рогатый скот, овцы), чем от животных с однокамерным желудком (например, лошадей, свиней). Кроме этого, в составе фрагментов керамики идентифицированы насыщенные кислоты с нечетным числом атомов углерода, в частности C_{15:0}, C_{17:0} и C_{19:0}, что характерно для жиров жвачных животных, поскольку такие кислоты образуются в пищеварительном тракте животных с многокамерным желудком под воздействием некоторых бактерий [Evershed et al., 2002]. Тем не менее, нельзя исключать наличие свиного жира в одном из исследуемых образцов (PI_S2_30_1).

Молочные жиры отличаются от жировой ткани животных по наличию короткоцепочечных насыщенных жирных кислот ряда C₄-C₁₄ [Evershed et al., 2002]. Короткоцепочечные жирные кислоты более летучи, легче восприимчивы к гидролизу и лучше растворимы в воде [Пожидаев и др., 2017]. По этой причине молочные жиры очень редко обнаруживаются в археологической керамике [Evershed et al., 2002]. Следовательно, несмотря на величины отношений жирных кислот в исследованных фрагментах

керамики, в целом соответствующие жировой ткани жвачных животных (говяжий, бараний жир), мы не можем однозначно утверждать об отсутствии молочного жира, поскольку со временем молочный жир мог преобразоваться до жирных кислот, характерных для жировой ткани [Evershed et al., 2002]. Более того, присутствие насыщенных короткоцепочечных жирных кислот в исследованных образцах в незначительных количествах (не превышающих нескольких процентов), не позволяет исключить молочный жир из состава нагара.

Присутствие полиядерных ароматических углеводородов говорит о возможности применения термической обработки при приготовлении пищи. Присутствие в образцах оксикислот и дикарбоновых кислот говорит о частичной деградации жирных кислот [Dunne, 2017].

Полученные данные согласуются с тем фактом, что местное население занималось скотоводческой деятельностью, о чем свидетельствуют добавки в формовочную массу керамики навоза жвачных животных, дробленых костей и использование при обработке поверхности мягкой кожи и овчины [Дубягина, 2017].

Таким образом, ГХ/МС анализ археологической керамики (Бозшаколь, Казахстан) показал, что органические остатки, входящие в жировой нагар, имеют животное происхождение, преимущественно из жировой ткани (сала) коров и/или овец, но присутствие остатков молочного жира не может быть исключено. Судя по наличию биомаркеров термического преобразования жирных кислот, керамическая посуда могла использоваться не только для хранения, но и для приготовления пищи на огне. Учитывая большие вариации литературных данных по жирокислотному составу жира и молока современных животных, зачастую приводящие к перекрыванию диапазонов индикаторных отношений жирных кислот для раз-

личных животных, точное установление видовой принадлежности затруднено на данном этапе работы и требует дальнейших исследований.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-09-00194 А.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бабурина М.И., Вострикова Н.Л., Иванкин А.Н., Зенкин А.Н. Биохимическая конверсия природных липидов // Теория и практика переработки мяса. 2018. Т. 3(3). С. 12–26.
2. Дубягина Е.В. Керамический комплекс Бозшакольского горно-металлургического памятника эпохи поздней бронзы // Наука и бизнес: пути развития. 2017. Т. 6(72). С. 147–149.
3. Пожидаев В.М., Сергеева Я.Э., Слушная И.С., Кашкаров П.К., Яцишина Е.Б. Применение метода газовой хроматографии для уточнения атрибуции древнего глиняного сосуда // Бутлеровские сообщения. 2017. Т. 52(12). 73–81.
4. Craig O.E., Saul H., Lucquin A., Nishida Y., Tache K., Clarke L. et al. Earliest evidence for the use of pottery // Nature. 2013. V. 18. No. 496(7445). P. 351–354.
5. Dunne J. Organic Residue Analysis and Archaeology. Supporting Information. HEAG058b // Historic England. 2017. Available at <https://historicengland.org.uk/images-books/publications/organic-residue-analysis-and-archaeology/>
6. Evershed R.P., Dudd S.N., Copley M.S., Berstan R., Stott A.W., Mottram H., Buckley S.A., Crossman Z. Chemistry of Archaeological Animal Fats // Acc. Chem. Res. 2002. V. 35. P. 660–668.
7. Regert M. Analytical strategies for discriminating archaeological fatty substances from animal origin // Mass Spectrometry Reviews. 2011. V. 30(2). P. 177–220.