

Stiar N.¹, Evershed R.P.¹, Outram A.K.², Варфоломеев В.В.³

¹ Химический факультет, Бристольский Университет (г. Бристоль, Англия.);

² Кафедра археологии, Эксетерский Университет (г. Эксетер, Англия)

³ Сарыаркинский археологический институт при КарГУ им. академика Е.А. Букетова

ИДЕНТИФИКАЦИЯ ОСТАТКОВ ЖИРОВ В КЕРАМИКЕ ПОСЕЛЕНИЯ КЕНТ МЕТОДОМ АНАЛИЗА СТАБИЛЬНЫХ ИЗОТОПОВ*

Липидные остатки, обнаруженные в археологической керамике.

Органические остатки встречаются в древней керамике или в виде обуглившихся остатков на внутренней или внешней поверхности сосуда или абсорбированными в материал стенок сосуда (Evershed et al., 1999; Evershed, 2008). Остатки липидов с поверхности сосуда, как и остатки, абсорбированные в его порах, могут дать ценную информацию, касающуюся использования древних керамических сосудов (Evershed et al., 2001). Последние выполняют функцию «молекулярного сита» или «ловушки», сохраняя липиды в керамике на протяжении тысячелетий (Evershed et al., 1999; Evershed et al., 2001).

Проникновение липидов в пористые стенки неглазурованных керамических изделий впервые было обнаружено более 30 лет назад, когда липидные экстракты были проанализированы с помощью газовой хроматографии (GC) (Condamin et al., 1976; Patrick et al., 1985). С тех пор, как были проведены эти ранние исследования с целью определения происхождения липидных остатков, основываясь на относительных количественных соотношениях жирных кислот, развитие новых усовершенствованных масс-спектрометрических и изотопных методик сделало возможным идентифицировать широкий ассортимент продуктов, сохранившихся в порах археологических сосудов.

Идентификация липидных остатков обычно основывается на сравнении химических свойств липидных биомаркеров соединений, которые являются сложными органическими молекулярными окаменелостями, извлеченными из биохимического материала некогда существовавших организмов (Peters et al., 2005), присутствующих в археологическом липидном распределении, с химическими свойствами современных эталонных растений и животных (Evershed, 1993). В большинстве случаев это сравнение выполнялось при помощи методов высокотемпературной газовой хроматографии GC (HTGC) и газовой хроматографии/масс-спектрометрии (GC/MS). Этими методами можно извлекать подробную молекулярно-композиционную информацию из экстрактов, которую впоследствии можно сравнивать с современными эталонными материалами (Evershed et al., 1990; Evershed et al., 1992). В последнее время использование методов «мягкой» ионизации в масс-спектрометрии, таких как электроспрейная ионизация (ESI), оказалось особенно полезным в структурной идентификации соединений с высоким молекулярным весом, сохранившихся в древней керамике, например, ТАГов (триацилглицеридов), которые более сложно исследовать с использованием стандартных MS (масс-спектрометрических) методик (Mirabaud et al., 2007). Кроме того, использование анализа стабильного изотопа углерода,

* Исследование финансировалось Британским Советом по Исследованию Естественной Среды (грант NE/B504506/1), Британской Академией (грант SG-35540) и Министерством образования и науки Республики Казахстан (грант №0529/ГФ2 «Использование биологических ресурсов населением Сарыарки в эпоху бронзы»).

направленного на идентификацию определенного сложного соединения в GC/C/IRMS позволило дать более конкретную идентификацию продукции, сохранившейся в порах археологических гончарных изделий (Evershed et al., 1994; Evershed et al., 1997b). Эта методика оказалась особенно ценной при идентификации остатков деградированных животных жиров.

Чаще всего липидные остатки, встречающиеся в археологической керамике, представляют собой деградированные животные жиры (Evershed et al., 1999). Наиболее вероятно, что это происходит благодаря очень широкому применению животных продуктов, употреблявшихся на протяжении всей предыстории в самых разнообразных целях: в качестве пищи, художественных материалов, ритуальных жертвоприношений, смазочных материалов, для светильников, вяжущих материалов, гидроизоляционных материалов, косметики, притираний, клейких веществ, лаков, и т.д. (Mills & White, 1994; Evershed et al., 2001). Кроме того, такое частое присутствие животных жиров в порах керамических изделий может быть также объяснено сочетанием большого количества жира, полученного от переработки животных продуктов, по сравнению с количеством липидов из других продуктов, и содержанием высоко насыщенными жирных кислот, которое увеличивает вероятность их долговечности при захоронении. В результате высокой частоты их извлечения, изучение животных жиров, сохранившихся в археологических керамических сосудах, может дать ценную информацию относительно характера использования животных в доисторических обществах.

Использование анализа стабильного изотопа углерода для идентификации древних животных жиров, сохранившихся в порах археологической керамики.

В то время как распознавание животных жиров, сохранившихся в археологических гончарных изделиях, не вызывает затруднений благодаря их характерному липидному распределению, определение их видового происхождения усложняется диагенетическими изменениями, которые происходят при использовании сосуда и в процессе его нахождения в грунте культурного слоя или могилы (Evershed et al., 1999; Evershed et al., 2001). Однако, применение изотопного анализа стабильного углерода для идентификации деградированных животных жиров произвело революцию в этой области и дало возможность различать не только происхождение отдельного животного продукта, но в случае со жвачными животными и тип обработанного продукта (Evershed et al., 1999; Evershed et al., 2001).

Углерод существует в природе в виде трех изотопов, двух устойчивых (стабильных) – ^{12}C , ^{13}C и изотопа ^{14}C , который является радиоактивным. Они составляют 98,89%, 1,11% и 1×10^{-10} % мировых запасов углерода, соответственно. Отношение стабильных изотопов углерода определяется измерением отношения $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$, содержащимся в определенном материале (валовой анализ) или соединении (изотопный анализ на определение конкретного сложного соединения) и сравнением этого значения с международным стандартом VPDB, который имеет приписанное значение, равное 0‰. Он выражается, используя обозначение дельта (δ), где:

$$\delta^{13}\text{C} = \left[\frac{R_{\text{образец}} - R_{\text{стандарт}}}{R_{\text{стандарт}}} \right] \times 1000 \text{ (значения } \delta^{13}\text{C} \text{ приводятся на тысячу } \text{‰})$$

$R_{\text{образец}}$ = молярному соотношению $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ образца

$R_{\text{стандарт}}$ = молярному соотношению $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ стандарта

Значения $\delta^{13}\text{C}$ конкретного соединения легко определяются для жирных кислот (с переводом этих кислот в их метиловые эфиры FAMES), извлеченных из археологических артефактов методом газовой хроматографии GC/C/IRMS (рис. 1).

Идентификация деградированных животных жиров достигается путем определения значений $\delta^{13}\text{C}$ основных жирных кислот $\text{C}_{16:0}$ и $\text{C}_{18:0}$ с помощью GC/C/IRMS. Едва заметные различия в физиологии и метаболизме различных животных означают, что усвоение жирных кислот из пищи и их синтез различаются между видами, являясь причиной четких различий в значениях $\delta^{13}\text{C}$ определенного соединения, которое учитывает установление различий между жирами главных одомашненных животных (Evershed et al., 1997; Dudd, 1999; Mottram et al., 1999). Несмотря на изменения в липидном составе в тех случаях, когда сосуд использовался, и когда его помещали в захоронения, работы по изучению деградации продемонстрировали, что значения $\delta^{13}\text{C}$ жирных кислот $\text{C}_{16:0}$ и $\text{C}_{18:0}$ являются высоко устойчивыми и остаются по существу неизменными на протяжении всего процесса деградации (Evershed et al., 1995; Charters, 1996), что делает их идеальными для изучения сильно деградированных остатков животного жира.

Потенциальные возможности изотопного анализа стабильного углерода, направленного на обнаружение определенного сложного соединения, для идентификации деградированных остатков животных жиров были впервые продемонстрированы при изучении остатков из средневековых «ламп» и керамических блюд-подставок из Каузвей Лейн, Лестер, Соединенное Королевство (Causeway Lane, Leicester, UK) (Evershed et al., 1997b; Mottram et al., 1999). Анализ остатков из этих двух типов сосудов, проведенный с помощью газовой хроматографии и GC-MS, обнаружил, что они оба содержали значительные концентрации липида с распределениями, характерными для деградированных животных жиров. В лампах эти жиры представляли горючее, которое, видимо, сжигали для освещения, тогда как блюда-подставки, как полагают, были использованы для сбора жира и сбрызгивания жиром туши во время ее жарки на вертеле. Изотопный анализ стабильного углерода $\text{C}_{16:0}$ и $\text{C}_{18:0}$ жирных кислот первоначально был применен к археологическим остаткам жиров, чтобы определить, смогли бы эти значения классифицировать происхождение жира в соответствии с типом сосуда. Это оказалось так в случае с блюдами-подставками, демонстрирующими более высокие значения $\delta^{13}\text{C}$ обеих жирных кислот ($\text{C}_{16:0} \sim 2\text{‰}$ и $\text{C}_{18:0} \sim 5\text{‰}$), полученных из ламп. Хотя этот результат сам по себе был важен, сравнение значений $\delta^{13}\text{C}$ со значениями $\delta^{13}\text{C}$ современных эталонных животных обнаружило, что $\delta^{13}\text{C}$ значения из блюд-подставок, полученные при анализе на определение сложного соединения, хорошо соотносились со значениями, полученными от стандартных свиных жиров. Тогда как в случае с лампами, $\delta^{13}\text{C}$ значения были подобны значениям, полученным из жиров жвачных животных (крупного рогатого скота и овец; рис. 2). В результате остатки деградированных жиров были отнесены к свиным жирам и жирам жвачных животных в блюдах-подставках и лампах, соответственно (Evershed et al., 1997; Mottram et al., 1999).

Дальнейшее исследование применения анализа стабильного изотопа углерода, направленного на идентификацию определенного сложного соединения для классификации остатков археологических животных жиров привело к полной молекулярной и изотопной (по устойчивому углероду) идентификации базы данных современных стандартных британских жиров от различных пород животных и продуктов, которые, вероятно, потреблялись в древности (Dudd, 1999). Эти

эталонные жиры, включая коровьи жиры (животный жир и молоко), овечьи жиры (животный жир и молоко), олени жиры, конские жиры, свиные жиры, жиры домашней птицы и рыбий жир, были взяты от животных, выращенных на кормах известного изотопного состава. Молекулярное исследование эталонных жиров обнаружило отчетливые различия в липидных профилях различных животных, особенно между жирами жвачных и нежвачных животных вследствие сложного метаболического происхождения жирных кислот жвачных животных (Dudd, 1999). Как показано на рис. 3, анализ $\delta^{13}\text{C}$ стандартных жирных кислот животных обнаружил заметные различия в значениях, полученных от жвачных и нежвачных животных (Dudd, 1999). Более того, было установлено, что возможно проводить различие между животными и молочными жирами жвачных, основываясь на значениях $\delta^{13}\text{C}$ благодаря $\sim 2,3$ ‰ уменьшению в $\delta^{13}\text{C}_{18:0}$ в молочных жирах жвачных животных относительно $\delta^{13}\text{C}_{18:0}$ животного жира жвачных (Dudd & Evershed, 1998; Dudd, 1999; Copley et al., 2003).

Это отражает то, что существует другой источник $\text{C}_{18:0}$ жирной кислоты в молочной железе по сравнению с жировой тканью жвачных животных. Эти жирные кислоты, включая $\text{C}_{18:0}$, в жировой ткани жвачных животных, главным образом синтезируются вновь из ацетата (в виде ацетила CoA), который преимущественно образуется из пищевых углеводов в рубце (первом отделе желудка жвачных). Для сравнения, во время лактации молочная железа, которая не способна к синтезу $\text{C}_{18:0}$, получает $\text{C}_{18:0}$ жирные кислоты в значительной степени из ненасыщенных $\text{C}_{18:0}$ жирных кислот, присутствующих в фуражном материале, после их биогидрогенизации в рубце, наряду с меньшей долей, получаемой от мобилизации адипозных жиров (Moore & Christie, 1981). Это различие в $\delta^{13}\text{C}_{18:0}$ между молочными и адипозными жирами жвачных животных объясняется благодаря тому факту, что липиды более обеднены в $\delta^{13}\text{C}$, чем углеводы (Deniro & Epstein, 1977). Таким образом, молочные жиры, которые, главным образом, получают из биогидрогенизированных жирных кислот из фуража, показывают некоторое уменьшение в $\delta^{13}\text{C}$ относительно адипозных жирных кислот, полученных из углеводов, давая 2,3 ‰ уменьшению, выраженному значениями $\delta^{13}\text{C}_{18:0}$ молока жвачных животных (рис. 4) (Dudd & Evershed, 1998; Dudd, 1999).

Углеродный изотопный анализ остатков жиров, сохранившихся в археологических гончарных изделиях, дал возможность получить важную информацию, касающуюся использования животных в Британии, Европе и на Ближнем Востоке в древности. Например, жиры молочных продуктов, которые ранее невозможно было обнаружить в археологических сосудах, были идентифицированы в сотнях остатков и они предоставляют вещественное подтверждение тому, что в доисторической Британии, Европе и на Ближнем Востоке было широко распространено производство молочных продуктов (Copley et al., 2003; 2005a; 2005b; 2005c; 2005d; Craig et al., 2005; Evershed et al., 2008). Самое раннее свидетельство о ведении молочного хозяйства, обнаруженное в гончарных изделиях из некоторых мест Анатолии, датируется VII тыс. до н.э. (Evershed et al., 2008). Кроме того, тот же самый подход позволил обнаружить, что в рифленой керамике британского неолита экстенсивно перерабатывалась свинина (Mukherjee et al., 2007). Поэтому предполагалось, что, используя подобный изотопный подход, направленный на идентификацию определенных сложных соединений, при изучении остатков, сохранившихся в археологических гончарных изделиях из Казахстана, будет возможно исследовать модели доисторического использования животных в этом регионе.

Материалы и методы.

Поселение Кент находится в 220 км к ВЮВ от г. Караганды, в низкогорном лесистом массиве Кент. Остатки построек занимают берега небольшой р. Кызылкенеш. Поселение относится к постандроновской бегазы-дандыбаевской культуре общности культур валиковой керамики (Варфоломеев, 2011). На основании радиоуглеродных датировок и дат, полученных по методу аналогий, памятник датируется в широком хронологическом диапазоне XIII-IX вв. до н.э. Из культурного слоя извлечено около 30 000 фрагментов керамической посуды. По культурному составу керамика неоднородна. Основу коллекции составляют фрагменты посуды валикового облика. Они происходят от нелощенных сосудов ручной лепки, внешняя и внутренняя поверхность которых обработана пучками травы, деревянными щепками, костяными шпателями, в тесте — примеси органики, песка, шамота. Керамика валикового облика образует группу I керамической коллекции поселения Кент. Кроме того, на памятнике около 6% составляют фрагменты посуды импортного происхождения, в том числе андроновидная и станковая среднеазиатская. Керамика этих типов — плотная, непористая, и при отборе образцов для анализа предпочтение было отдано фрагментам керамики из группы I (рис. 5; рис. 6). Посуда этой группы представлена в основном горшечными формами с широкой горловиной (рис. 5; рис. 6: 1-4, 9), сосуды с узким горлом редки (рис. 6: 8), хотя и типичны. Объёмы этих горшков варьируют от 2-3 (рис. 6: 5-7) до 10-12 л (рис. 5; рис. 6: 1-4, 9). На днищах и внутренних, а иногда и на внешних стенках широкогорлых сосудов часто остаются остатки пищи в виде черных углистых нагаров, что особенно перспективно для определения состава пищи, приготовлявшейся в таких горшках. На узкогорлых кувшинах нагар не отмечен, они использовались для хранения жидкостей и/или сыпучих продуктов.

Аналізу органических остатков, абсорбированных в порах керамических сосудов, было подвержено 63 фрагмента посуды валикового типа из Кента. Были выбраны фрагменты от сосудов, которые, по-видимому, использовались для приготовления пищи. Где было возможно, выбирались фрагменты венчиков и тулова, поскольку было уже доказано, что они содержат более высокие концентрации липида, экстрагируемого растворителями (Charters et al., 1993).

Экстракция липидных остатков растворителями.

Липиды были экстрагированы при помощи общепринятого метода, приведенного в общих чертах на схеме (рис. 7). Были отобраны приблизительно 2 г пробы каждого глиняного черепка, и их поверхность была очищена с помощью специального бора (Como Mini Drill, MFA Como Drills), чтобы удалить любые экзогенные липиды, такие как жиры, привнесенные из почвы, или отпечатки пальцев землекопов и /или хранителей музея. Очищенный образец был размельчен стеклянным пестиком в ступке до тонкого порошка, тщательно взвешен и помещен в стеклянную колбу, в которую было добавлено 20 µl внутреннего стандарта (n-тетраэтилоксид, производства Sigma Aldrich Company Ltd.). Липиды были экстрагированы, используя хлороформ: метанол (10 мл; 2:1 v/v) и обработаны ультразвуком (2 x 20 мин). Экстракт был затем центрифугирован (2500 об/мин; 10 мин; MSE Mistral 1000) и супернатант, содержащий TLE (весь липидный экстракт), был удален и перемещен в стеклянную колбу. TLE был пропущен через колонку с силикагелем (1 г), чтобы удалить любые твердые частицы. Была получена аликвота TLE, чтобы образовать TMC (триметилсилиловые) эфиры и сложные эфиры перед проведением анализа методами HTGC (высокотемпературной газовой хроматографии) и GC/MS (газовой хроматографии/масс-спектрометрии). Экстракты,

содержащие компоненты ацилглицерина были гидролизваны и превращены в метиловые эфиры жирных кислот – МЭЖК (FAMES) и проанализированы методами GC и GC/C/IRMS и/или GC/TC/IRMS.

Подготовка производных ТМС.

Аликвота TLE была обработана N,O-бис (триметилсилил) трифторацетамидом (BSTFA), содержащим 1% триметилхлорсилана (Sigma Aldrich Company Ltd.; 40, µl; 70°C, 1 час). Избыточный BSTFA был удален под азотом, а производное TLE было растворено в гексане перед тем, как проводить анализ методами GC и GC/MS.

Сапонификация TLE.

Метанольный гидроксид натрия (5 % v/v) был добавлен к аликвоте TLE и нагрет (70°C, 1 час) при регулярном помешивании. После охлаждения, нейтральная фракция была извлечена гексаном (3 x 3мл). Оставшийся раствор был подкислен до pH 3 (HCl 1M) и свободные жирные кислоты были извлечены хлороформом (3 x 3 мл), а растворитель удален под азотом.

Приготовление метиловых эфиров жирных кислот МЭЖК (FAMES).

МЭЖК (FAMES) производные свободных жирных кислот были приготовлены путем нагревания с BF₃-метанолом (14 % w/v; Sigma Aldrich Company Ltd.; 100 µl, 70°C, 1 час). Была добавлена дважды дистиллированная вода (1 мл) и МЭЖК (FAMES) производные были извлечены хлороформом (3 x 2 мл), а растворитель удален под азотом. МЭЖК (FAMES) были заново растворены в гексане перед проведением анализа методами GC, GC/C/IRMS и GC/TC/IRMS.

Современные эталонные животные жиры из Казахстана.

Образцы современных животных жиров были получены в Северном Казахстане в 2002-2005 годах. В общей сложности было собрано 11 образцов свинины, 6 говядины и 10 образцов конины на местных рынках, а 5 образцов коровьего молока и 6 образцов конского молока были взяты непосредственно у фермеров. Хотя рацион питания этих животных неизвестен, фермеры в этом регионе выращивают своих животных почти исключительно в степи. Данные о пыльце, собранные с многочисленных озер и болот в Северном Казахстане, показали, что степной растительный покров очень мало изменился с 10100 года до н.э. (Kremenetski, 2003; Tarasov, Kaptan, 1997). Это же, надо полагать, относится и к Центральному Казахстану. Следовательно, вполне корректно предположить, что пища эталонных животных, вскормленных в современной степи, адекватно представляет тот тип пищи, который животные, выращенные в древности, могли бы потреблять. Кроме того, также были получены 16 образцов пресноводной рыбы. Некоторое ее количество было выловлено в реках у гг. Лисаковска и Кокшетау, а другая была куплена на рынках в Костанаве, Кокшетау и Караганде. В общем, набор образцов включает образцы плотвы (3), окуня (2), щуки (4), карпа (6) и сома (1).

Образцы животных тканей были взяты с помощью скальпеля и высушены сублимацией в стеклянной колбе. Подготовленные образцы были взвешены и было добавлено 70 µg внутреннего стандарта (н-тетратриаконтана). Липиды были извлечены, используя метод, описанный выше. Супернатант был центрифугирован (2500 об/мин, 10 мин.) и отфильтрован через колонку с силикагелем (1г). Аликвота TLE была произведена с помощью BSTFA, как описано выше, и проанализирована методом высокотемпературной газовой хроматографии — HTGC. Дальнейшая аликвота была омылена и кислотная фракция была замещена до метиловых эфиров жирных кислот (FAMES) и проанализирована методами GC, GC/C/IRMS и GC/TC/IRMS.

Использование приборов и аппаратуры.

Все анализы высокотемпературной газовой хроматографии (HTGC) были выполнены на газовом хроматографе Hewlett Packard 5890 series II, соединенном с компьютером Opus V PC, использующим программное обеспечение HP Chemstation. Один миллиграмм образца впрыскивался в капиллярную колонку, изготовленную из кварцевого стекла (15 м x 0,32 мм в.д.), покрытую диметилполисилоксаном в качестве неподвижной фазы (J&W Scientific; DB1-HT, толщина пленки фазы 0,1 μm). Температурная программа состояла из 2 мин. изотермической выдержки при 50°C, за которым следовало повышение температуры до 350°C со скоростью 10°C в мин⁻¹. Затем температура выдерживалась при 350°C в течение 10 мин. Пламенно-ионизационный детектор (ПИД) использовался, чтобы контролировать элюат. Водород являлся газом-носителем при давлении в голове колонки 10 фунтов на квадратный дюйм.

Анализы МЭЖК были выполнены методом газовой хроматографии с помощью газового хроматографа Hewlett Packard 5890 series II, соединенным с персональным компьютером, использующим программное обеспечение Clarity. Один миллиграмм образца впрыскивался в капиллярную колонку, изготовленную из кварцевого стекла (60 м x 0,32 мм в.д.), покрытую плотной цианопропиловой неподвижной фазой, модифицированной метил полисилоксаном (Varian Inc., USA; VF23ms; толщина пленки фазы 0,15 μm).

Температурная программа состояла из 1 мин. изотермической выдержки при 50°C, за которой следовало повышение температуры до 100°C со скоростью 15°C в мин⁻¹, с последующим повышением температуры до 240°C со скоростью 4°C в мин⁻¹, за которым следовало окончательное увеличение температуры до 260°C со скоростью 15°C в мин⁻¹ с изотермическим периодом в 15 мин при температуре 260°C. Пламенно-ионизационный детектор (ПИД) – (FID) использовался, чтобы следить за элюатом, а водород являлся газом-носителем при давлении в голове колонки 10 фунтов на квадратный дюйм.

Для проведения газовой хроматографии/масс-спектрометрии (GC/MS), с использованием масс-спектрометра ThermoFinnigan Trace MS ThermoFinnigan Trace MS, образцы были введены с помощью инжектора с программированием температуры (PTV), установленного в режиме бесбросового ввода образцов в полидиметилсилоксановую колонку (Phenomenex, ZB-1, 60 м x 0,32 мм в.д., толщина пленки фазы 0,1 μm). Первоначальная температура порта впрыскивания составляла 50°C с фазой испарения равной 1 мин, за которой следовал переход с 50°C до 300°C при скорости нарастания температуры 14,5°C сек⁻¹ с изотермическим периодом в 37 минут. Программа GC состояла из изотермического периода в 2 мин при 50°C, за которым следовало увеличение температуры до 300°C в течение 10 мин. Масс-спектрометрия проводилась в режиме ионизации электронным ударом (EI) газохроматографическим интерфейсом температуры в 300°C и источником температуры в 200°C. Ток эмиссии составлял 150 μA и MS получали в диапазоне m/z 50-650 а.е.м. при скорости сканирования 1,3 изображений в секунду. Сбор и обработка данных выполнялись с использованием компьютерной программы Xcalibur.

Методами высокотемпературной газовой хроматографии/масс-спектрометрии (HTGC/MS) были проанализированы триметилсилилатированные TLE, используя систему фирмы Perkin Elmer Turbomass Gold, оборудованную капиллярной колонкой, изготовленной из кварцевого стекла (J&W; DB1-HT; 15м x 0,25 мм в.д.; толщина пленки фазы 0,1 μm). Газохроматографический интерфейс (GC) поддерживался при

350°C. Масс-спектрометр работал в режиме полного сканирования (50 – 850 дальтон, 1 сканирование/0,6 сек; 40 eV и температурой источника ионизации 240°C). Газом-носителем был гелий, термостат хроматографической колонки был запрограммирован следующим образом: 2 мин изотермической выдержки при 50°C, за которым следовало увеличение температуры до 350°C при скорости 10°C мин⁻¹, после этого температура 350°C выдерживалась в течение 10 мин. Пики были установлены, основываясь на их масс-спектральных характеристиках и времени удержания ГХ, а также путем сравнения с NIST библиотечными масс-спектрами.

Анализ соотношения изотопов углерода при сгорании методом MS (GC/C/IRMS) были проведены с помощью газового хроматографа Varian 3400, соединенного с масс-спектрометром Finnigan MAT Delta S IRMS посредством в значительной степени модифицированного интерфейса Finnigan MAT type I, присоединяющего элементные анализаторы со сжиганием пробы, медной и платиновой проволокой (0,1 мм наружного диаметра) в глиноземном реакторе (0,5 мм внутреннего диаметра). Температура реактора поддерживалась на уровне 860°C, а давление в источнике масс-спектрометра было 6×10^{-6} мбар. Коллекторы Фарадея были использованы для обнаружения ионов m/z 44 а.е.м. ($^{12}\text{C}^{16}\text{O}_2$), 45 ($^{13}\text{C}^{16}\text{O}_2$ и $^{12}\text{C}^{17}\text{O}^{16}\text{O}$) и 46 ($^{12}\text{C}^{18}\text{O}^{16}\text{O}$). В качестве хроматографической колонки использовалась колонка Factor Four VF-23ms (Varian Chrompack 60 м x 0,32 мм в.д., толщина пленки фазы 0,15 μm). Температурная программа состояла из изотермического периода в 1 мин при 50°C, за которым следовало повышение температуры до 240°C при скорости 10°C мин⁻¹, за которым следовал изотермический период в 10 мин при 240°C. Анализ также проводился с использованием масс-спектрометра изотопного отношения ThermoElectron Deltaplus XP, соединенным с газовым хроматографом ThermoElectron Trace посредством интерфейса Thermo-Electron GCCIII. Образцы впрыскивались через PTV инжектор в режиме бесбросового ввода образцов. Газовый хроматограф был снабжен капиллярной колонкой из кварцевого стекла (60 м x 0,32 мм в.д.), покрытой плотной цианопропиловой неподвижной фазой, модифицированной метилполисилоксаном (Varian Inc., USA; VF23ms; толщина пленки фазы 0,15 μm). Температура в реакторе окисления поддерживалась на уровне 940°C, а в реакторе восстановления на уровне 600°C. Давление поддерживалось на уровне 6×10^{-6} мбар, а коллекторы Фарадея использовались, чтобы обнаружить ионы массы 44 а.е.м. ($^{12}\text{C}^{16}\text{O}_2$), 45 ($^{13}\text{C}^{16}\text{O}_2$ и $^{12}\text{C}^{17}\text{O}^{16}\text{O}$) и 46 ($^{12}\text{C}^{18}\text{O}^{16}\text{O}$). Температурная программа состояла из изотермического периода в 1 мин при 40°C, за которым следовало повышение температуры до 240°C при скорости повышения 10°C мин⁻¹, за ним – изотермический период в 1 мин при 240°C.

Анализ современных эталонных жиров из Казахстана.

Рисунок 8 показывает, что по $\delta^{13}\text{C}$ значениям $\text{C}_{16:0}$ и $\text{C}_{18:0}$ жирных кислот возможно различать жиры разных видов. Несмотря на небольшое совмещение значений конского жира со значениями жира жвачных животных, эти два типа жиров имеют довольно хорошее разрешение, причем конские жиры менее обеднены в своих значениях $\delta^{13}\text{C}_{18:0}$ по сравнению с адипозными жирами жвачных животных. Свиные жиры хорошо отделяются от других видов, демонстрируя самое меньшее изменение значения $\delta^{13}\text{C}_{18:0}$, а жиры пресноводной рыбы также имеют довольно хорошее разрешение в результате того, что $\delta^{13}\text{C}_{18:0}$ и $\delta^{13}\text{C}_{16:0}$ уменьшены, соответственно, на 3‰ и 1,5 ‰ по сравнению с другими видами (рис. 8). Уменьшенные значения $\delta^{13}\text{C}$ пресноводной рыбы раньше относили за счет включения CO_2 , выделяемого болотной средой обитания (Rau, 1980; Fry, 2002), и это может быть включением CO_2 такой природы в пресноводную экосистему казахской

степи, которое вызывает относительное уменьшение значений $\delta^{13}\text{C}$ в этих видах по сравнению со значениями сухопутных наземных животных.

Подобно британским жирам (Dudd & Evershed, 1998), животные и молочные жиры казахстанских жвачных животных четко разделяются, исходя из среднего уменьшения в значениях $\delta^{13}\text{C}$ жирной кислоты $\text{C}_{18:0}$ в молочных жирах. Как обсуждается выше, это происходит благодаря пищевому маршруту биогидрогенизированных жирных кислот, извлеченных из фуража, к молочной железе для выработки $\text{C}_{18:0}$ в молочных жирах скорее, чем возобновление синтеза $\text{C}_{18:0}$ из ацетатов, полученных из углеводов, поскольку это доминирующий процесс в депо жиров жвачных животных (Christie, 1981; Dudd & Evershed, 1998).

В отличие от жиров жвачных животных, невозможно разделить конские адипозные и молочные жиры, основываясь на значениях $\delta^{13}\text{C}$ их жирных кислот из-за значительного наложения этих двух наборов значений. Это, вероятно, происходит из-за различия в биосинтетическом происхождении, которое существует у жвачных животных, что делает возможным изотопное разделение их молочных и адипозных жиров.

Молекулярный и изотопный анализ органических остатков из керамики Кента.

В общей сложности были проанализированы 63 глиняных черепка из Кента, 73% которых содержали липидные концентрации, поддающиеся оценке. Средняя липидная концентрация составляла $126,9 \mu\text{g g}^{-1}$ и все липидные распределения были характерны для деградированных животных жиров, причем больше всего было жирных кислот $\text{C}_{16:0}$ и $\text{C}_{18:0}$ (рис. 9). ТАГ (триацилглицериды) хорошо сохранились в 21 глиняном черепке (33%) и располагались в порядке от C_{44} до C_{56} , причем в большинстве случаев компонент C_{52} встречался в самых больших количествах, а C_{44} , C_{46} и C_{56} встречались в незначительных количествах или полностью отсутствовали (рис.9а). Четыре вытяжки (PS108, PS110, PS143 и PS145) содержали длинную цепь C_{31} , C_{33} and C_{35} кетонов в соотношении 1:2:1, указывая на то, что в этих сосудах грели или готовили пищу (рис. 9б). Большинство липидных распределений обнаруживало разветвленные цепи $\text{C}_{15:0}$ и $\text{C}_{17:0}$ жирных кислот. И опять это может означать, что это остатки жвачного происхождения, однако, это должно быть подтверждено посредством стабильного изотопного анализа жирных кислот.

Анализ стабильного изотопа углерода, направленный на идентификацию определенного сложного соединения.

В общей сложности 31 остаток был отобран для анализа стабильного изотопа углерода, направленного на идентификацию определенного сложного соединения. Значения $\delta^{13}\text{C}$, полученные по методике, описанной выше, представлены на рисунке 10. Суммарное распределение жировых остатков из керамики Кента показывает, что большинство сосудов (74%) использовалось для того, чтобы перерабатывать продукты жвачных животных. Это согласуется с тенденциями, наблюдаемыми в соотношениях жирных кислот, которые обычно относительно низкие и находятся в пределах, ожидаемых для жиров жвачных животных/свиных жиров. Преобладание продуктов жвачных животных в посуде бронзового века не вызывает удивления, поскольку доминирование домашнего крупного рогатого и мелкого рогатого скота зафиксировано в Казахстане (Benecke & von Den Driesch, 2003) и оно типично для известных моделей использования животных, ассоциируемых с андроновской культурой (Mallory, 1989; Zdanovich, 2003; Lamberg-Karlovsky, 2005).

Значения $\delta^{13}\text{C}$ анализа стабильного изотопа углерода в пищевых остатках бронзового века являются достоверным доказательством того, что в тот период

велось молочное хозяйство с использованием жвачных животных. Большая часть сосудов (39%) демонстрирует уменьшенные значения $\delta^{13}\text{C}$ жирных кислот $\text{C}_{18:0}$, характерных для молочных жиров жвачных животных, указывая на то, что эти сосуды использовались в переработке молочных продуктов жвачных животных. Жирные кислоты, происшедшие из молочных продуктов жвачных животных, встречаются в больших количествах, чем какой-либо другой тип животного жира, служа признаком того, что молочное хозяйство было важной отраслью экономической деятельности.

Оказалось, что ряд сосудов использовался для переработки одного отдельного продукта, или мяса жвачного животного (жировая ткань) или молочных продуктов, что выявляется, когда значения $\delta^{13}\text{C}$ помещают эти остатки внутри доверительного эллипса, свойственного какому-нибудь определенному животному жиру или близко к нему. Кроме того, несколько остатков нанесены на графике между кругами, обозначающими животный и молочный жир (рис. 10), что наводит на мысль о том, что они произошли из смеси этих двух жиров. Это может быть результатом того, что два продукта питания перерабатывались в одной посуде одновременно, или эта посуда повторно использовалась для переработки разных продуктов жвачных животных в отдельных случаях. Оба эти сценария возможны, так как было показано, что абсорбированные остатки не просто относятся к последнему случаю использования посуды, и что смешивание продуктов оставляет свидетельства использования обоих продуктов в керамической посуде (Charters et al., 1995; Charters, 1996).

В порах сосудов нет признаков свиных жиров, что указывает на то, что свиные продукты не перерабатывались в керамической посуде в Кенте. Это подтверждается и количеством костей свиньи в остеологической коллекции Кента, где они составляют только 0,08% (Outram, Каспаров, 2007). Таким образом, свинья не была важным источником пищи у обитателей Кента, представляющих одну из групп бегазыдандыбаевской культуры. Отсутствие свиньи характерно и для более ранней андроновской культурно-исторической общности, ранее этот факт использовался в аргументах об индоиранском происхождении андроновцев (Mallory, 1989; Lamberg-Karlovsky, 2005). В проанализированных фрагментах керамики из Кента не найдено ни одного свидетельства использования пресноводной рыбы. Это может означать, что рыба не употреблялась в пищу на Кенте, тем более, что в ближайшей р. Талды, и в ее правом притоке — р. Кызылкеныш, на которой расположено поселение, в небольших количествах водится только мелкая плотва, вряд ли представлявшая пищевой интерес.

В общей сложности в четырех остатках (PS114, 141, 179, 186) обнаружилось значения $\delta^{13}\text{C}$ анализа стабильного изотопа углерода, которые попали в область значений, ожидаемую для конских жиров, или были рядом с ней. Относительно небольшое количество конских жиров, встречающихся в этих местах, по сравнению с жирами жвачных животных, указывает на то, что лошадь не являлась важным источником пищи на протяжении этого периода. Это соответствует данным остеологии позднебронзовых поселений, где лошади, хоть и присутствовали, но никогда не составляли более 30% общего количества фаунистических остатков.

Выводы.

Методики, разработанные для идентификации абсорбированных липидных остатков в археологических гончарных изделиях в Европе, также применимы для изучения аналогичных остатков в Казахстане. Анализ стабильного изотопа углерода современных эталонных животных жиров из Казахстана показывает, что возможно разделять адипозные жиры жвачных животных, свиней, лошадей и рыбы, а также

идентифицировать молочные жиры жвачных животных. Установлено, что основные принципы метаболического фракционирования изотопов углерода, которые делают возможным это разделение, применимы в степной окружающей среде так же, как они применимы в умеренных климатических условиях Европы.

Это исследование показывает, что доение жвачных животных (крупного рогатого скота и овец) было очень важной составляющей экономики позднего бронзового века Казахстана, поскольку большая часть протестированных сосудов обнаруживает значительно уменьшенные значения $\delta^{13}\text{C}$, что должно ассоциироваться с молочными продуктами. Анализ большинства остальных образцов согласуется с фактом, что в посуде готовили мясо жвачных животных, несмотря на то, что очень мало признаков того, что конина употреблялось в пищу из керамической посуды. Нет никаких свидетельств того, что эта посуда употреблялась для приготовления свинины или рыбы. Эти доказательства указывают на ведение скотоводческого хозяйства, в большой степени основанного на использовании мясных и молочных продуктов от жвачных животных, причем лошади использовались главным образом для верховой езды и в качестве тягловой силы, а не как источник пищи. Если рыба из местных рек и употреблялась в пищу, то, по-видимому, ее не готовили в керамической посуде.

Данные, полученные на материалах поселения Кент, с известной долей вероятности могут быть экстраполированы на другие поселения бегазы-дандыбаевской культуры.

ЛИТЕРАТУРА

Ахинжанов С.М., Макарова Л.А., Нурумов Т.Н. К истории скотоводства и охоты в Казахстане (по остеологическому материалу из археологических памятников энеолита и бронзы). – Алма-Ата, 1992. – 218 с.

Варфоломеев В.В. Бегазы-дандыбаевская культура степей Центральной Евразии // Археология Казахстана в эпоху независимости. – Т. I. – Алматы. 2011. – С. 210-240.

Benecke N., von Den Driesch A. Horse exploitation in the Kazakh steppes during the Eneolithic and Bronze Age // Prehistoric Steppe Adaptation and the Horse. (eds M. Levine, C. Renfrew and K. Boyle). – Cambridge, 2003 – Pp. 69-82.

Brand W. High precision isotope ratio monitoring techniques in mass spectrometry // Journal of Mass Spectrometry. – 1996. – #31. – Pp. 225-235.

Charters S. Chemical investigations of absorbed lipids and laboratory simulation experiments to interpret archaeological pottery vessel contents and use. – PhD thesis. – University of Bristol, 1996.

Chariere S., Evershed R.P., Blinkhorn P.W., Denham V. Evidence for the mixing of fats and waxes in archaeological ceramics // Archaeometry. – 1995. – #37. – Pp. 113-127.

Charters S., Evershed R.P., Goad L.J., Heron C., Blinkhorn P. (1993) Identification of an Adhesive Used to Repair a Roman Jar // Archaeometry. – 1993. – #35. – Pp. 91-101.

Christie W.W. Lipid Metabolism in Ruminant Animals // Progress in Lipid Research. – Oxford, 1981.

Condamin J., Formenti F., Metais M.O., Michel M., Blond P. Application of Gas-Chromatography to Tracing of Oil in Ancient Amphorae // Archaeometry. – 1976. – #18. – Pp. 195-201.

Copley M.S., Berstan R., Dudd S.N., Docherty S.N., Mukherjee A.J., Straker V., Payne S., Evershed R.P. Direct chemical evidence for widespread dairying in prehistoric Britain // *Proceedings of the National Academy of Science*. – 2003. – #100. – Pp. 1524-1529.

Copley M.S., Berstan R., Dudd S.N., Aillaud S., Mukherjee A.J., Straker V., Payne S., Evershed R.P. Processing of milk products in pottery vessels through British prehistory // *Antiquity*. – 2005a. – #79. – Pp. 895-908.

Copley M.S., Berstan R., Dudd S.N., Straker V., Payne S., Evershed R.P. Dairying in antique. I: Evidence from absorbed lipid residues dating in the British Iron Age // *Journal of Archaeological Science*. – 2005b. – #32. – Pp. 485-503.

Copley M.S., Berstan R., Mukherjee A.J., Dudd S.N., Straker V., Payne S., Evershed R.P. Dairying in antiquity. III: Evidence from absorbed lipid residues dating in the British Neolithic // *Journal of Archaeological Science*. – 2005c – #32. – Pp. 523-546.

Copley M.S., Berstan R., Straker V., Payne S., Evershed R.P. (2005d) Dairying in antiquity. II: Evidence from absorbed lipid residues dating in the British Bronze Age // *Journal of Archaeological Science*. – 2005d. – #32. – Pp. 505-521.

Craig O.E., Chapman J., Heron C., Willis L.H., Bartosiewicz L., Taylor G., Whittle A., Collins M. Did the first farmers of central and eastern Europe produce dairy foods? // *Antiquity*. – 2005. – #79. – Pp. 882-894.

Dudd S.N. Molecular and Isotopic Characterization of Animal Fats in Archaeological Pottery. – PhD thesis. – University of Bristol. – 1999.

Dudd S.N., Evershed R.P. Direct demonstration of milk as an element of archaeological economics // *Science*. – 1998. – #282. – Pp. 1478-1481.

Dudd S.N., Evershed R.P. Evidence for varying patterns of exploitation of animal products in different prehistoric pottery traditions based on lipids preserved in surface and absorbed residues // *Journal of Archaeological Science*. – 1999. – #26. – Pp. 1473-1482.

Evershed R.P. Biomolecular archaeology and lipids // *World Archaeology*. – 1993. – #25. – Pp. 74-93.

Evershed R.P. Experimental approaches to the interpretation of absorbed organic residues in archaeological ceramics // *World Archaeology*. – 2008. – #40. – Pp. 26-47.

Evershed R.P., Arnot K.I., Collister J., Eglinton G., Charters S. Application of isotope ratio monitoring gas-chromatography Mass-Spectrometry to the analysis of organic residues of archaeological origin // *Analyst*. – 1994. – #119. – Pp. 909-914.

Evershed R.P., Charters S., Quye A. Interpreting lipid residues in archaeological ceramics: preliminary results from laboratory simulations of vessel use and burial // *Materials Research Society Symposium Proceedings*. – Pittsburgh, 1995. – Pp. 85-95.

Evershed R.P., Dudd S.N., Charters S., Mottram H.R., Stott A.W., Raven A.M, van Bergen P.F., Bland H. Lipids as carriers of anthropogenic signals from prehistory // *Philosophical Transactions of the royal society of London series B-Biological sciences*. – 1999. – P. 354.

Evershed R.P., Dudd S.N., Lockhean M.J., Jim S. Lipids in Archeology // *Handbook of archaeological sciences*. – Chichester, 2001.

Evershed R.P., Heron C., Charters S., Goad L.J. The survival of food residues: New methods of analysis, interpretation and application // *Proceedings of the British Academy*. – 1992. – #77. – Pp. 187-208.

Evershed R.P., Heron C., Goad L.J. Analysis of organic residues of archaeological origin by high-temperature gas chromatography and chromatography-mass spectrometry // *The Analyst*. – 1990. – #115. – Pp. 1339-1342.

Evershed R.P., et.al. New criteria for the identification of animal fats preserved in archaeological pottery // *Naturwissenschaften*. – 1997. – #82. – Pp. 402-406.

Evershed R.P., et-/al. Earliest date for milk use in the Near East and southeastern Europe linked to cattle herding // *Nature*. – 2008. – #455. – Pp. 528-531.

Fry B. Stable isotope indicators of habitat use in Mississippi River fish // *Journal of the North American Benthological Society*. – 2002. – #21. – Pp. 676-685.

Kremenetski K.V. Steppe and forest-steppe belt of Eurasia: Holocene environmental history // *Prehistoric steppe adaptation and the horse*. – Cambridge, 2003. – Pp. 11-27.

Lamberg-Karlovski C.C. Archaeology and language: The case of the Bronze Age Indo-Iranians // *The Indo-Aryan controversy: Evidence and inference in Indian history*. – London and New York, 2005. – Pp. 142-177.

Mallory J.P. In search of the Indo-Europeans: Language, archaeology and myth. – London, 1989.

Mills J.S., White R. *The Organic Chemistry of Museum Objects*. – Oxford, 1994.

Mirabaud S., Rolando C., Regert M. Molecular criteria for discriminating adipose fat and milk from different species by NanoESI MS and MS/MS of their triacylglycerols: Application to archaeological remains // *Analytical Chemistry*. – 2007. – #79. – Pp. 6182-6192.

Mottram H.R., Dudd S.N., Lawrence C.J., Stott A.W., Evershed R.P. New chromatographic, mass spectrometric and stable isotope approaches to the classification of degraded animal fats preserved in archaeological pottery // *Journal of Chromatography A*. – 1999. – #813 – Pp. 209-221.

Mukherjee A.J., Berstan R., Copley M.S., Gibson A.M., Evershed R.P. Compound-specific stable carbon isotope detection of pork consumption applied to the British Late Neolithic // *Antiquity*. – 2007. – #81. – Pp. 743-754.

Outram A.K., Каспаров А.К. Первые результаты изучения остатков млекопитающих поселения Кент // *Историко-культурное наследие Сарыарки*. – Караганда, 2007. – С. 107-115.

Patrick M., Dekoning A.J., Smith A.B. Gas-Liquid Chromatographic Analysis of Fatty-Acids in Food Residues from Ceramics Found in the Southwestern Cape, South-Africa // *Archaeometry*. – 1985. – #27 – Pp. 231-236.

Peters K.E., Walters C.C., Moldovan J.M. *The Biomarker Guide (Vol. 1): Biomarkers and isotopes in the environment and human history*. – Cambridge, 2005.

Rau G.H. Carbon-13/carbon-12 variation in subalpine lake aquatic insects: food source implications // *Canadian Journal Fisheries and Aquatic Sciences*. – 1980. – #37. – Pp. 742-746.

Tarasov P.E., Jolly D. and Kaplan J.O. A Continuous Late Glacial and Holocene record of vegetation changes in Kazakhstan // *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*. – 1997. – #136. – Pp. 281-292.

Zdanovich G. The steppes of the Urals and Kazakhstan during the Late Bronze Age // *Prehistoric steppe adaptation and the horse*. – Cambridge, 2003. – Pp. 395-404.

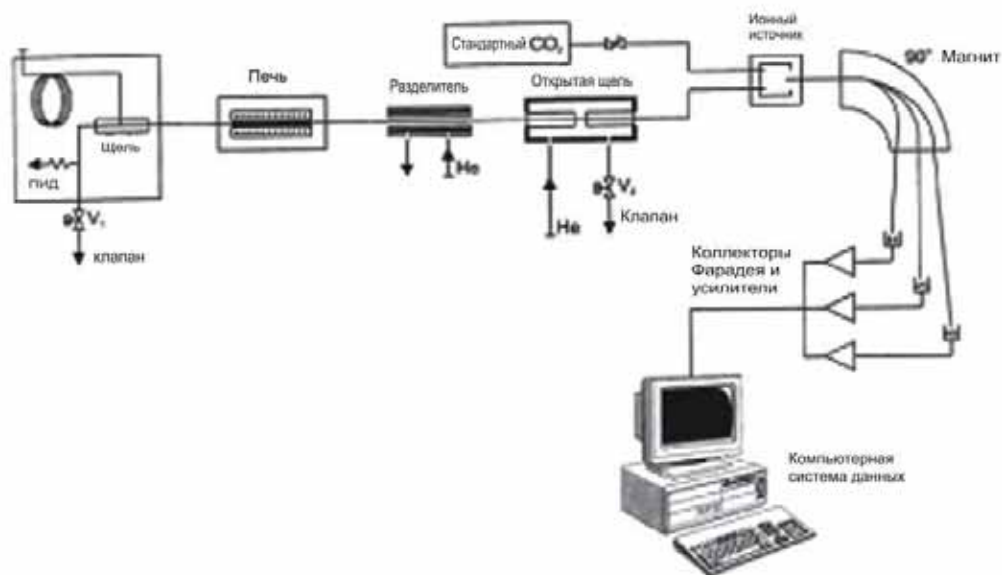


Рис. 1

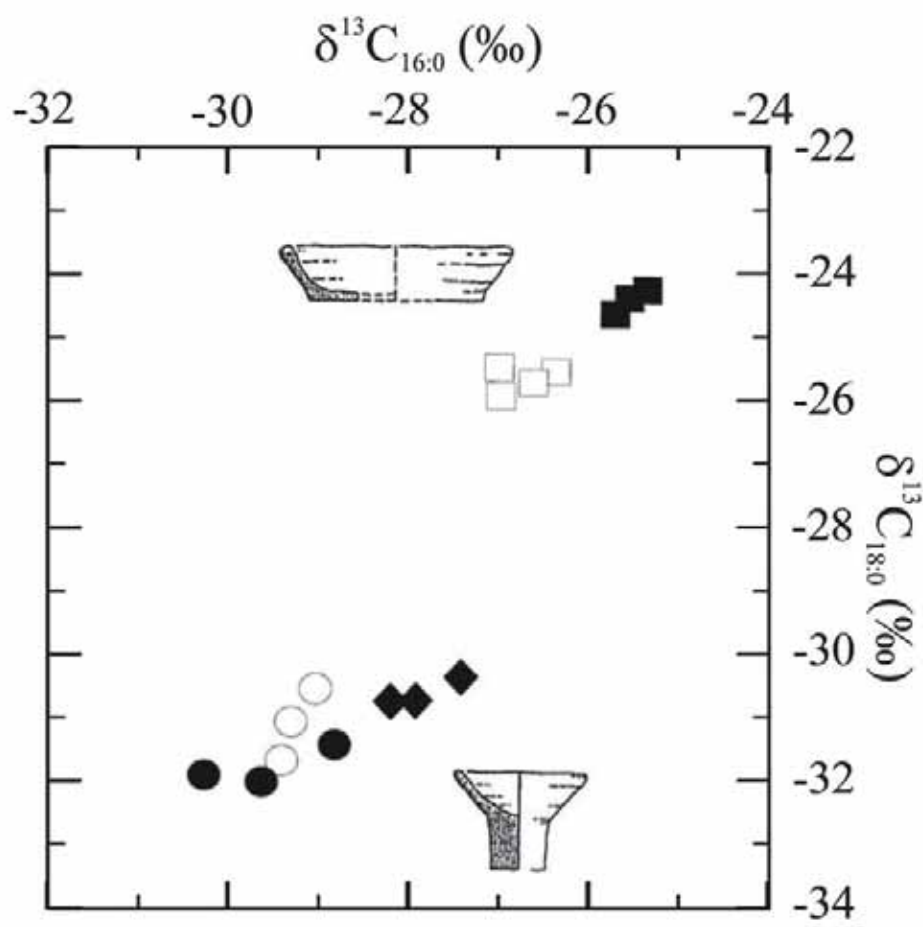


Рис. 2

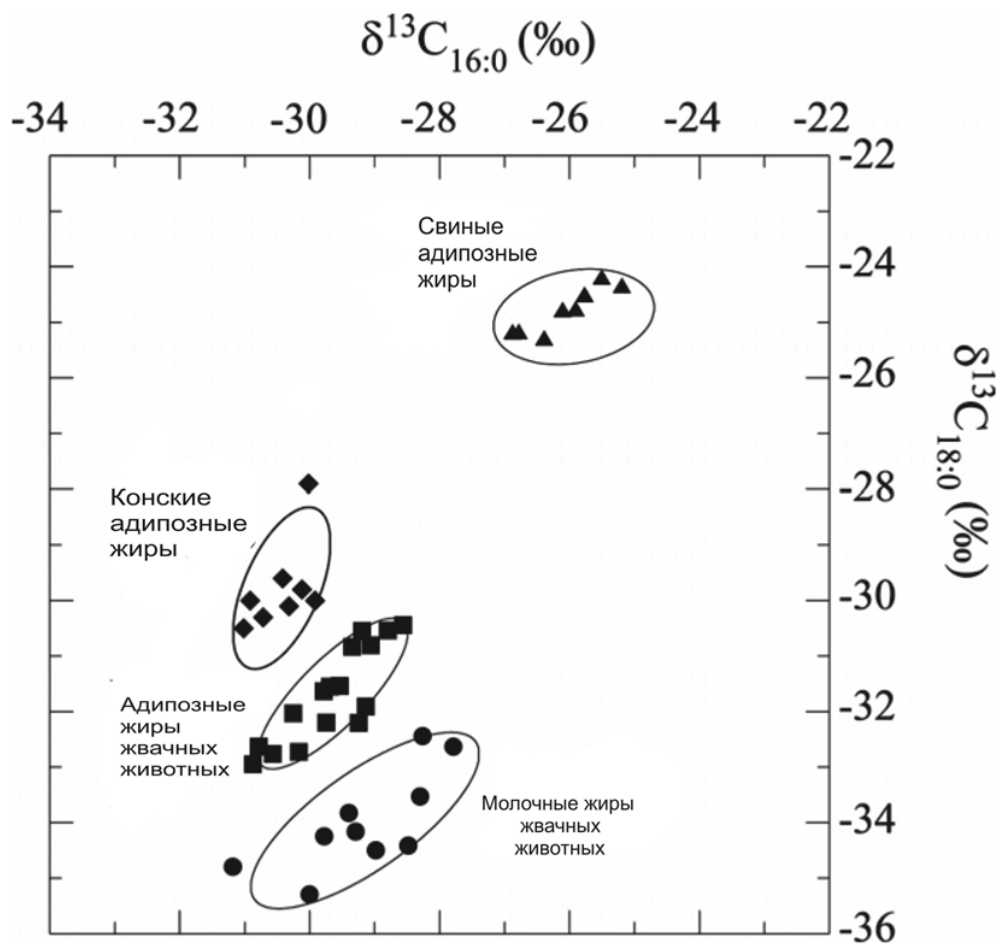


Рис. 3

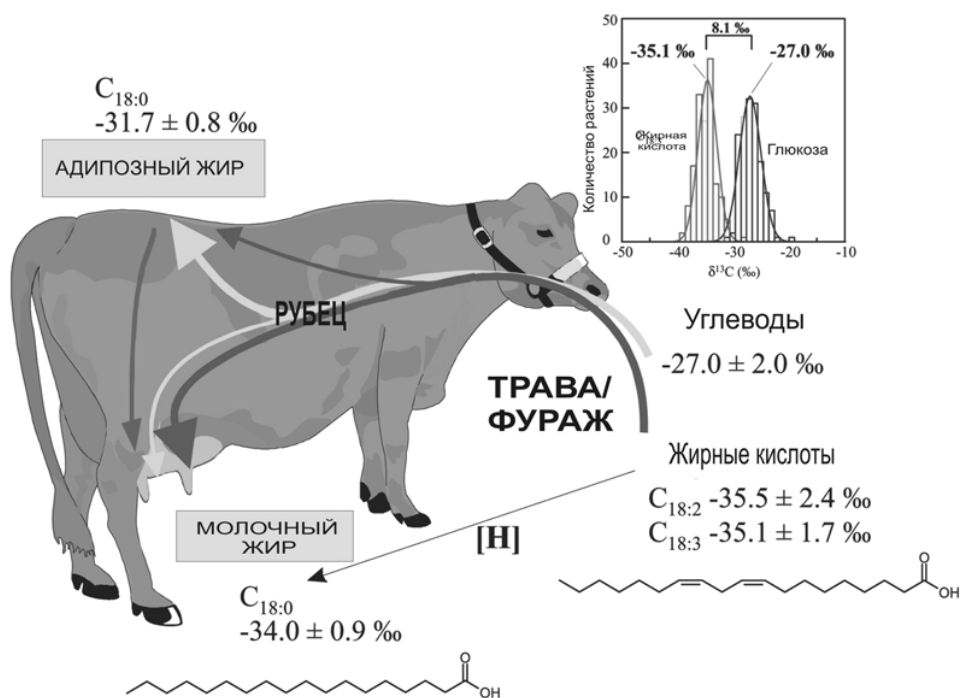


Рис. 4

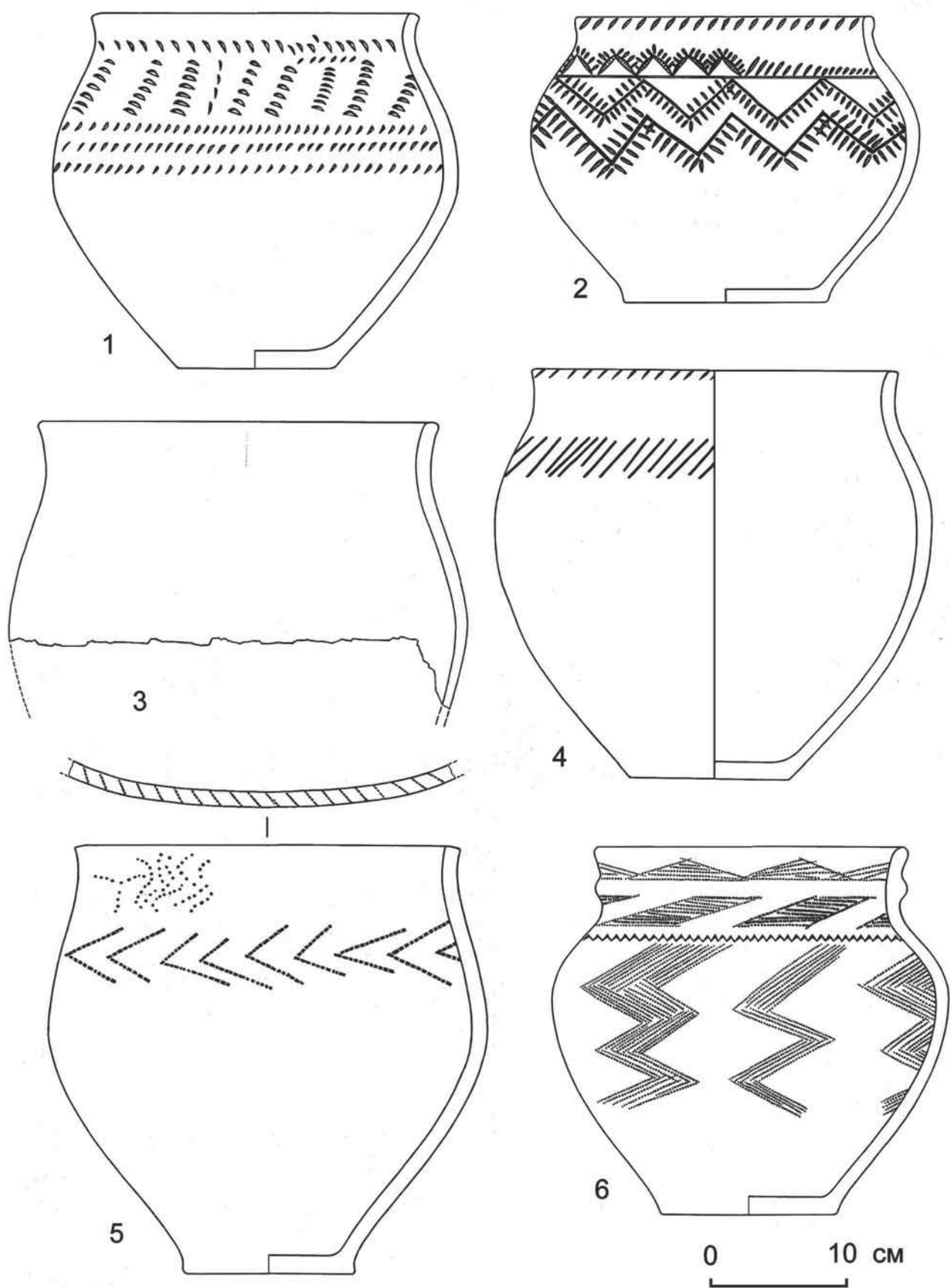


Рис. 5

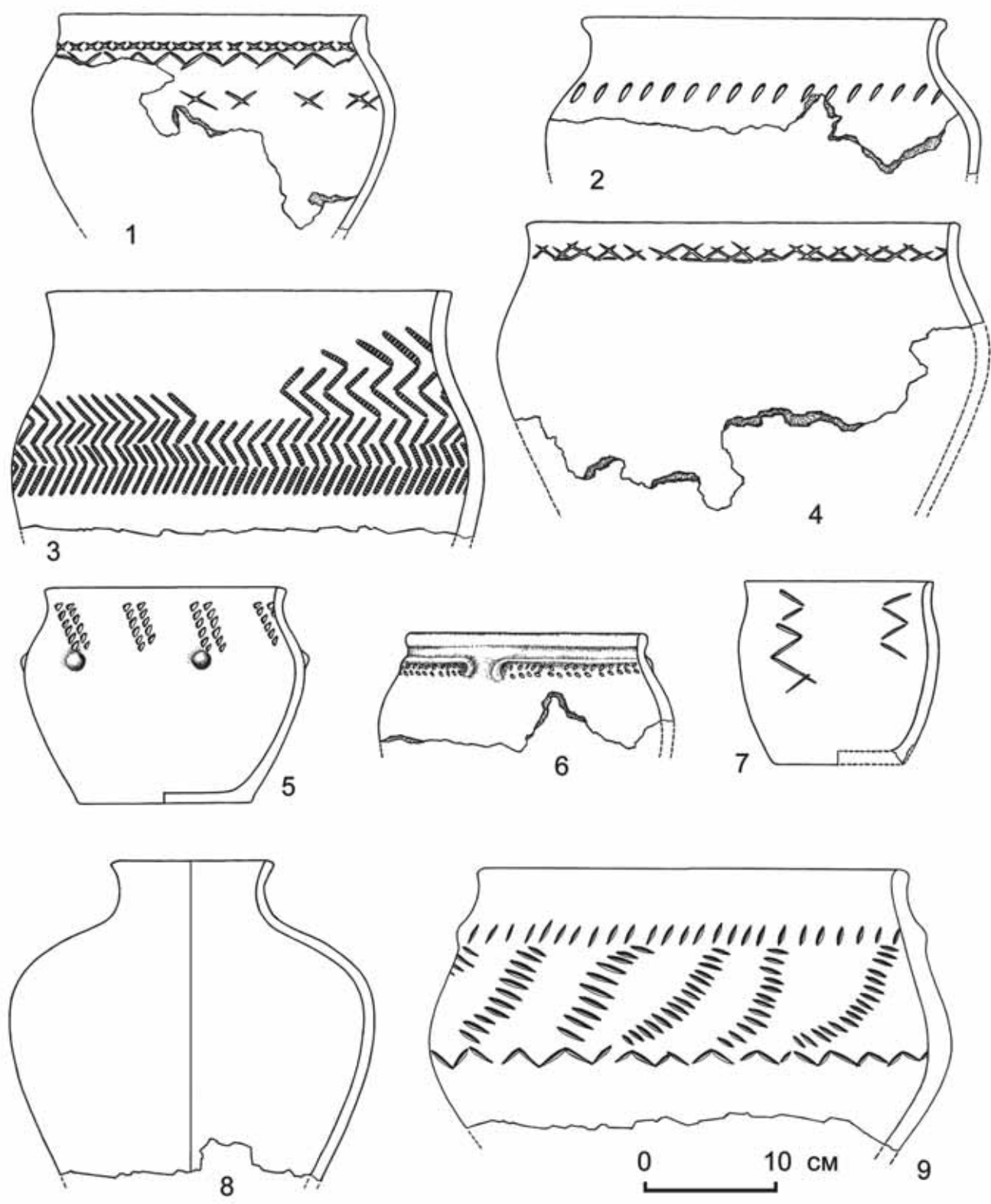


Рис. 6

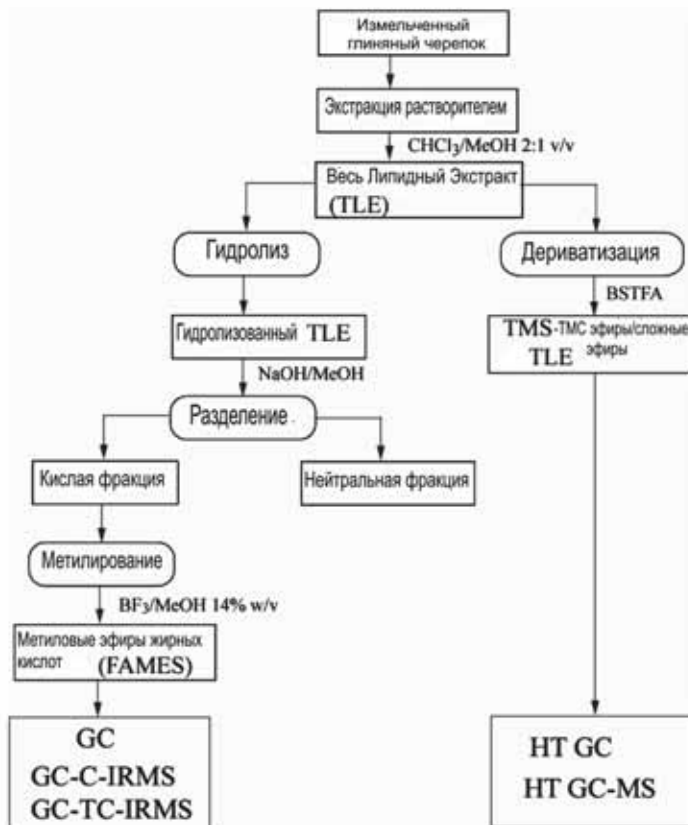


Рис. 7

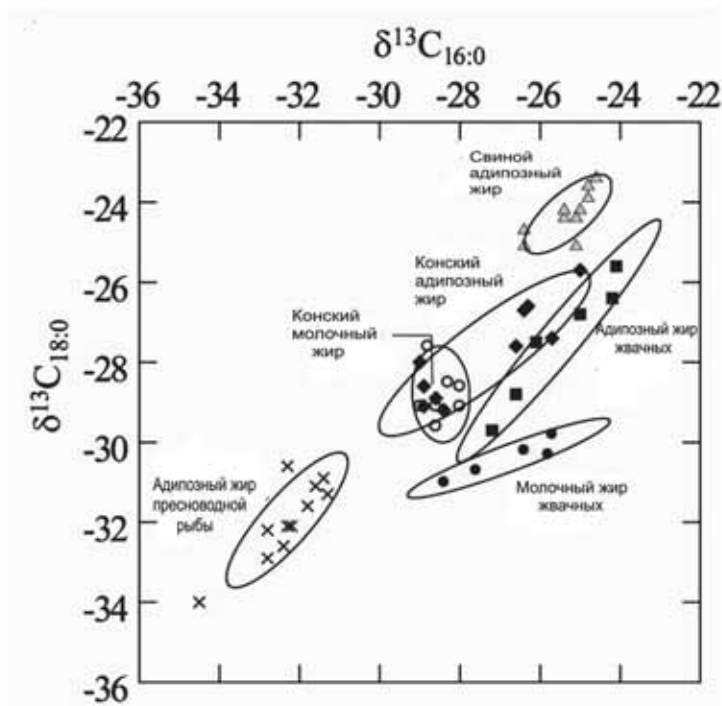


Рис. 8

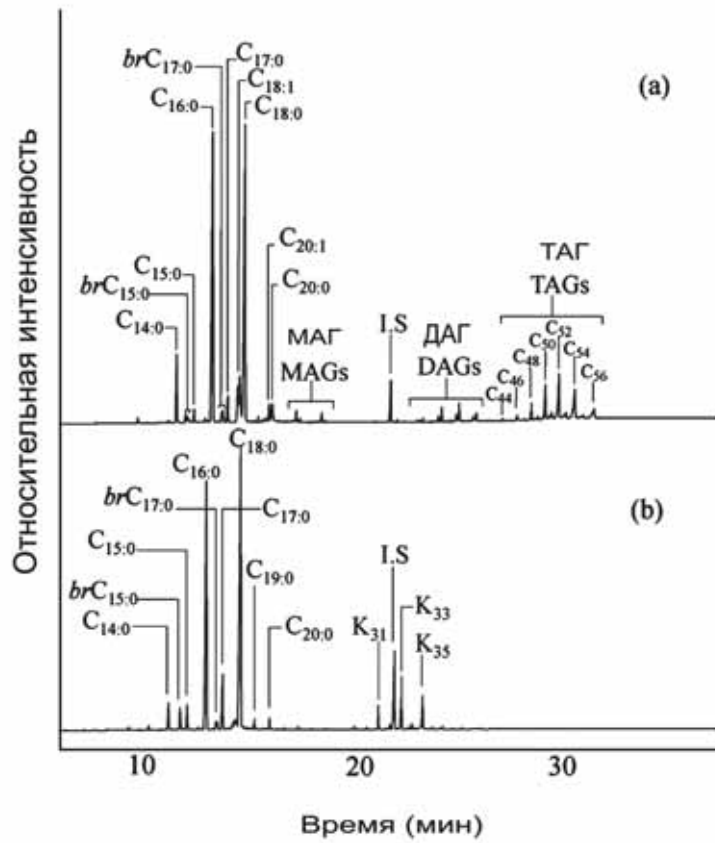


Рис. 9

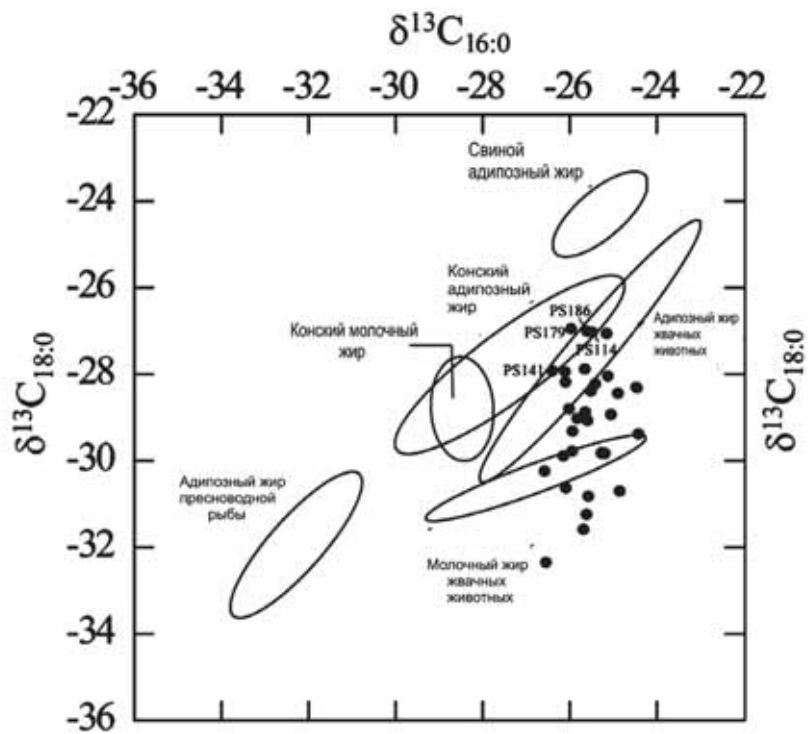


Рис. 10