



Слободан
БОГОЈЕВИЋ

дипл. инж. технологије,
конзервативор

УДК: 666.3:543.2
903.23:666.3

ЛИПИДНИ БИОМАРКЕРИ У ОРГАНСКИМ ОСТАЦИМА СА АРХЕОЛОШКЕ КЕРАМИКЕ

ПРЕГЛЕДНИ РАД

АПСТРАКТ: *Липиди су једна од основних група биолошких органских молекула широко заступљених у свим живим организмима. Мнобројне студије указале су да они као биомаркери остају очувани на широком спектру налаза са различитих археолошких локалитета. Рада разматра присуство липида у сложеним органским смешама везаним за керамичке налазе, односно посуде у циљу добијања потпуније археолошкој тумачења и интерпретације. Праћени се животи липидних биомаркера почев од оригиналној, као и у току и након археолошкој контекста. Посебна пажња посвећена је процесима трансформације и утицају околине на очување органских остатака, односно липидних биомаркера. Део рада односи се на аналитички протокол, као и преглед аналитичких техника и метода који се у свему користе за хемијску анализу липидних фракција, односно сложених органских смеша.*

КЉУЧНЕ РЕЧИ: *археологија, органски остаци, липиди, биомаркери, керамика*

Увод

Иако почеци савремене хемије сежу два века уназад, а наука о материјалима у скорију прошлост, људи су одувек и несвесно долазили у контакт са хемијским једињењима и процесима чинећи их тако саставним делом сопственог искуства. Као пример се може узети процес кувања хране који укључује одвијање хемијских процеса на високим температурама при чему се мења физичко и хемијско стање хране, док производња керамике и стакла укључује компликоване и комплексне хемијске процесе итд.¹

Примена хемијских техника и метода у археологији (саставни део археолошке хемије) или шире археометрије и савременије дисциплине науке у конзервацији, бацају светло на природу материјала

и процесе њиховог настанка и пропадања у прошлости. Достигнућа у анализи органских остатака стварају потребу за поновном евалуацијом многих стандардних процедура за тумачење и интерпретацију керамичких археолошких налаза. Захваљујући органским остацима керамика се не посматра више као искључиво неоргански материјал, већ као комбиновани материјал са органском компонентом.

Анализа органских остатака најчешће подразумева одређивање липидног и протеинског састава који доприноси добијању потпунијих информација везаних за археолошки и антрополошки контекст керамичких налаза. Анализа липида се све више препознаје као вредан извор информација везаних за прехранбене производе и сировинске робе које

су се користиле у праисторији и антици. Оне пружају археолозима обиље информација у утврђивању функције посуда (спремање хране, складиштење материјала, транспорт и др.), као и утврђивању режима исхране у прошлости. Интеграцијом проучавања порекла транспортних материјала ове анализе могу помоћи да се успоставе везе између извора посуде, робе, врсте производа и, на крају путева транспорта, органских производа у некадашњим деловима света.

Керамика у археолошким студијама

Керамика у археолошком контексту

Још од давнина људи су трагали за најоптималнијим начинима за чување, паковање и транспорт хране и нектварљиве робе. С обзиром да је ово питање у људској цивилизацији актуелно и данас, овај археолошки материјал може се посматрати у друштвеном, верском, економском и политичком контексту. Керамика се током историје показала као један од најпогоднијих и најзаступљенијих материјала за ову сврху. Сировине су лако доступне, гориво је јефтино, док се поломљена грнчарија лако може заменити и рециклирати.

После лома керамички фрагменти *јубе* вредност што резултира да су најзаступљенији археолошки материјални остаци. Многе археолошке студије базиране су на испитивању и реконструисању посуда и предмета.

Керамика садржи обиље корисних информација у вези са периодизацијом, хронологијом, опстанком, производном технологијом, мобилношћу и друштве-

ним статусом. Детаљно проучавање керамичких узорака односи се на начин употребе и начин одбацивања или евентуалне секундарне употребе предмета, као и процеса формирања археолошког локалитета. Посебна пажња посвећује се промени друштвене динамике, као и стила живота.²

Керамика као вештачки направљена форма настаје комбиновањем четири основна елемента препозната од стране древних Грка: земља (глина), вода, ваздух и ватра. Направљена је од посредне или промишљене смесе глине, других чврстих материјала познатих по генеричком називу пуниоци и воде. Мешавина глине, пуниоца и воде формира се у жељени облик, суши и пече на високим температурама (изнад 600 °C) када постаје консолидована у керамику.¹

Нису сви објекти, структуре или материјали од глине класификовани као керамика. Производи од опеке сушени на сунцу недовољно су загрејани да изазову промене у кристалној структури, па су на тај начин технички осушена глина, а не керамика.³ Керамички производи деле се у две групе: грубу грађевинску керамику (опеке, црепови, глинене цеви, плоче за тротоаре и др.) и фину керамику за свакодневну употребу (теракоте и порцелан). Уобичајени археолошки керамички материјали су грнчарија и опека, направљени углавном од мешавине секундарне глине и пуниоца.⁴

Керамички сировински материјали су пластични, могу се обликовати у било коју замишљену форму, а њихова морфолошка и функционална различитост је огромна. Иако је подложна преломима (већина керамичких материјала склона је пуцању, ломљењу, мрвљењу и лаком

разбијању), керамика је много чвршћи и трајнији материјал од оригиналне сирове глине, а притом је стабилна и отпорна на дејство временских услова, влаге и хемикалија. Керамички материјали су ватростални, тј. подносе високе температуре без омекшавања, спајања, промене облика или тежине и без промене хемијског састава. Отпорни су на дејство инсеката и биолошких врста, лако се чисте и одржавају, могу се рециклирати и погодни су за превоз робе. Јефтине су за свакодневну употребу, а са друге стране могу бити и изузетно елегантни за служење цара.^{1,5,6}

На састав керамике у археолошком контексту (земљиште или подводни локалитет) значајно може утицати околно окружење, односно апсорбовање или губитак хемијских елемената. Керамика обично има високо порозну микроструктуру и изузетно мале величине честица које имају велику површину и сходно томе високу хемијску реактивност. Тако натријум и калијум, као растворљиви елементи, могу бити испирани подземном водом и обратно, али и елементи у подземним водама могу бити депоновани у микроскопске поре керамике.¹

Намењена функција посуде у односу на стварну употребу

Керамичке посуде чине форму оптималног изворног материјала за археолошка истраживања јер су служиле за свакодневну употребу и то најчешће за чување различитих материјала, често су биле произведене локално, ређе импортоване (одражавају локалне вредности и потребе), имале су релативно ограничену употребу и често су добро очуване. Јасно разумевање функције оригиналне посуде од суштинског је значаја за добијање адекватних закључака из фрагментова-

них остатака једне заједнице, односно информације везане за социо-економски развој, организацију производње и трговине, као и механизме културне интеракције. Археолошке информације сачуване у било ком фрагменту могу се у потпуности протумачити ако је позната оригинална употреба предмета.⁷

Научник Рајс је функције керамичких посуда поделио на три широка подручја: чување, трансформација или прерада и пренос или транспорт.⁸ Однос између керамике и начина живота одређених друштава веома је близак. Студија хране и прехранбених навика, као и сложеност и комбинација керамичког материјала као облик културног израза одражавају посебне културне перцепције које друштво има према храни. Одсуство фигуративних представа и писаних извора утиче на то да је грнчарија често основни извор и моћно средство за истраживање и разумевање структуре било ког друштва, али и за проучавање археозоологије и археоботанике.^{9,10}

Било да су посуде виђене као предмети за размену или симболични предмети, не-утилитарни или утилитарни, већина је произведена за одређену употребну сврху. Највећи број археолошких метода за идентификацију функција посуде усмерен је на проучавање намењене функције посуде, тј. посао (или опсег послова) које је грнчар имао на уму приликом израде посуде. Такве студије се заснивају на претпоставци да морфологија, као и друге хемијске, минеролошке, физичке, механичке и технолошке особине керамике могу да се оптимизују тако да одговарају одређеној употребној сврси или су ограничене намењеним употребним контекстом. Истраживачка стратегија се најпре односи на неоткривене специ-

фичне производне, морфолошке и технолошке, као и стилске карактеристике које идентификују функционалне категорије посуде. Међутим, односи између морфологије, технологије и коришћења нису униформни и специфични, већ су сложени и променљиви, а њихове студије обично пружају опште употребне категорије или локалне етнографске класификације. Иако поређење унакрсних културних података показује да су неке везе скоро универзално потврђене, многи од предвидљивих односа између форме, технологије и функције могу бити непоуздани и двосмислени. Највећи део напора подразумева тражење атрибута, односно предвиђање коришћења који би требало да имају универзалну вредност и укрштено културну применљивост.⁷

Истраживања везана за функцију посуда могу грубо да се поделе на студије намењене и стварне функције посуде. Ранији циљ водио је ка одговору *за шта је посуда произведена*, а каснији *како је посуда заправо коришћена*.⁸ Све већи број археолошких и етноархеолошких студија пружају доказ да различити фактори, укључујући амбијенталне и социјалне, одређују процесе производње и употребу керамике. Сложене природе односа између форми судова, технологије и употребе, односе се на науку о оптималним карактеристикама посуда за кување.

Студије усмерене на стварну употребу посуде указују на независне информације о оригиналној утилитаристичкој улози суда. Традиционални археолошки приступ кроз проучавање повратног контекста обично је ограничен малим деловима посуде поново откривеним у њиховом оригиналном употребном контексту. Најдиректнији и најдеталнији начин да се идентификује стварна употреба

посуде је путем студија *ујошредби њромене* - трагови коришћења нађени у/на керамичком материјалу (индиректна анализа садржаја неочишћене керамике у односу на директну анализу површине керамике). Научници *Following Hally* и *Skibo* дефинисали су *ујошредне њромене* као било коју хемијску или физичку промену која се јавља на површини или супстанци од керамике. Основне промене односе се на *осијање* или *хабање* керамике, тамне трагове (последица директног контакта са отворним пламеном или непотпуно сагорелим горивом), трагове чађи, органске остатке (везане за спољашње или унутрашње површине зида суда или апсорбоване унутар керамике), оксидационо обезбојење итд. Студије у овом контексту често могу да се примене само на целим судовима како би се избегла забуна са променама које могу настати након њиховог одбацивања.^{7,9}

Потешкоће у примени метода развијених од студија целих посуда огледају се у ретко успешној реконструкцији великог броја фрагмената. Што је лако разумљиво на комплетним судовима, нарочито онима који су још увек у употреби у етнографском контексту, може бити тешко препознатљиво или мерљиво на фрагментима често изгачаним и иструганим, разбацаним око и ван њиховог контекста употребе. Студије постају још сложеније услед чињенице да су посуде могле имати више функција или да су се могле користити више пута након највероватније одговарајуће примарне функције.⁹

Хемијска анализа органских остатака има кључан значај у функционалном проучавању керамике, односно процени функције посуда, посебно када се комбинује са контекстуалним, техно-морфолошким и *ујошредби њромене* анализима.

Све већи број студија показује потенцијал хемијских анализа видљивих и апсорбованих органских остатака у приближавању одговора најчешће везаних за исхрану и стварну употребу посуда. Варијације хемијских карактеристика остатака могу се разумети и тумачити као резултат варијација у начину употребе керамичких посуда или избору намирница приликом кувања у њима.^{7,11}

Органски остаци

Органски остаци се могу сматрати одрживим изворима информација на археолошким локалитетима у различитим климатским, еколошким и геолошким зонама. Њихова анализа припада искључиво области аналитичког протокола и доводи до бољег разумевања хемијских процеса који играју улогу у очувању и деградацији биомолекуларних карактеристика.

Табела 1 даје преглед различитих археолошких локација и културних слојева у којима органски остаци могу опстати. Иако органски остаци имају капацитет да преживе у дугом временском периоду, њихов опстанак није увек изванредан. Разлози још увек нису потпуно разјашњени, али свакако рефлектују и културне и тафономске разлике у животу органских остатака преко процеса формирања, депозиције/одбацивања и закопавања до коначног откривања.¹²

Органски остаци везани за керамичке посуде јављају се у три главне форме нудећи изузетан спектар информација у вези са функцијом посуде, локалитетом и регионалним привредама и технологијама:

1) тренутни садржај сачуван на лицу места (*in situ*) као садржај посуде (значајне количине природних или произведених производа попут смола, катрана, масти, уља и др.); примери где су садржаји преживели на лицу места су заиста ретки;⁷

2) површински видљиви остаци у унутрашњости или спољашњости посуде: чађ, гар (настали као последица горења за потребе кувања, односно термичке обраде хране) и угљенисани остаци (нпр. загорела храна) највише су познати аналитичарима керамике; поред њих јављају се и примењене декорације, лепак који се користио за поправку посуда у античко доба, видљиви остаци у светиљкама (остаци горива и фитиља), као и заптивајуће превлаке наошане након печења керамике (најчешће биљног порекла). Спољни површински остаци могу се јавити и у виду угљенисаних органских компоненти које потичу од садржаја дифундованог кроз зид посуде које *lore* споља, као и у виду остатака насталих када се течност из посуде током кувања преливала споља (кипела). Иако су видљиви остаци подложни контаминацији у току и након археолошког контекста, они су најчешће хемијски испитивани и широко примењивани у програмима датирања;⁷

3) апсорбовани остаци сачувани унутар зида посуде невидљиви голим оком; ова последња категорија остатака је убедљиво најчешће присутна и вероватно најраспрострањенији резидуални тип. До сада обављене анализе указују на то да апсорбовани органски остаци преживе у преко 80% керамичке амбалаже за кување. Они настају кроз процесе прераде биљних и животињских производа, са топлотном и/или механичком акцијом

мобилисања масти, воскова и других биохемијских компоненти.¹³

Присутни су бројни примери апсорбоване течности у керамику посуде (иако су се заптивајући материјали користили да умање порозност, односно спрече апсорпцију супстанци приликом дугорочног складиштења или транспорта) углавном као трагови вина или других ферментисаних пића, уља и лекова. Много је мања вероватноћа присуства остатака услед складиштења или транспорта чврстих материја и на њих могу указати само присуство инкрустација или апсорбованих остатака који не показују хемијске промене као код термичке деградације, већ знаке озбиљне оксидације услед дуготрајне изложености кисеонику.⁷

Хемијска испитивања сложених типова органских остатака, опсталих након дугог временског периода, утицала су на њихову импресивну идентификацију (биљна уља, животињске масти, смоле, катран, воскови, битумен, биљни каучук, протеинозни материјали, органске боје итд.) који су коришћени као лепкови, премази и заптивајући агенси, сликарски и бојени материјали, лакови, као састојци за козметику, лекове, као и припреме за ритуалну употребу, нпр. мумификациони мелеми. Када су у питању керамичке посуде везане за транспорт, посебно у римском периоду, ове анализе могу пружити информацију о врсти робе која је транспортована (биљне смоле, уља, мед). Анализа остатака вина и других алкохолних пића представља посебан изазов.¹⁴⁻¹⁷ За идентификацију ове врсте остатака, базирану на откривању специфичних биомаркера (винска и јоргованска киселина), HPLC-MS-MS техника пружа изузетну осетљивост и селективност.¹⁶⁻¹⁷

Процеси трансформације

Разумевање механизма очувања органских остатака заснива се готово у потпуности на емпиријским посматрањима. Како и у којој мери се трансформације одвијају делимично одређују појаве специфичне за одређене културе, а делимично су резултат хемијских процеса. Процеси трансформације приказани су на примеру праисторијске посуде и укључују промене у оригиналном контексту (*културне трансформације*), процесе у археолошком контексту (природне промене), као и трансформације које се одвијају током и након ископавања (сл. 1). Неке од хемијских промена ће искомпликовати препознавање оригиналног материјала услед деградације специфичних хемијских карактеристика (деградациони процеси), док ће друге побољшати њихово очување (процеси конзервације).

Припрема прехранбених и непрехранбених материјала (лепкови, боје, материјали за осликавање, уља из лампи, лекови, балзами) може обухватати два важна хемијска процеса: мешање без загревања и кување или загревање. Процес мешања има уједно и конзервирајући и деградациони ефекат. Ово може, са једне стране, отежати идентификацију и утврђивање порекла оригиналних биомолекула, али и отворити могућност за формацију нових отпорних једињења (меланоидини се формирају када се протеини и шећери греју заједно). Кување и загревање резултирају још екстремнију комбинацију хемијских ефеката. Загревање органских течности у керамичкој посуди може довести до процеса конзервације (импрегнација органских супстанци у керамички материјал посуде и формирање чађи на површини). Са друге стране, евентуални губитак водорастворљивих

једињења и евентуална термичка деградација могу довести до губитка одређених биомолекуларних карактеристика. Угљенисање, односно карбонизација, један су од најважнијих процеса који доводи до очувања чврстих органских остатака на керамичким посудама. Овде треба поменути и присуство површинских превлака (најчешће биљног порекла) које додатно компликују анализу. Хемијске промене које се одвијају током ових процеса изузетно су сложене и могу прикрити много оригиналних маркера, па се у циљу бољег разумевања ових процеса често изводе симулирани експерименти загревања на данашњим прехранбеним намирницама.^{7,10}

Археолошки и постархеолошки контекст

Различити фактори околине утичу на очување органских остатака укључујући температуру, светлост, степен засићености водом, редокс услове, физичко-хемијске особине и рН вредност земљишта, биомасу итд. Сува средина је пожељна јер је развитак микроорганизама условљен присуством воде, али није ни идеална јер је могуће присуство екстензивне абиолошке хемијске оксидације остатака. Изузетно очување органских остатака примећено је код пустињских локалитета. Са друге стране, водозасићене насlage, посебно у аноксичним условима, могу представљати повољну средину за опстанак органских остатака (нпр. *bog bodies*). За разлику од стабилних, променљиви климатски услови (наизменично квашење и сушење) у највећој мери угрожавају опстанак органских остатака.

Након што је керамичка посуда одбачена, велики број деградационих процеса може утицати на хемијски састав орган-

ских остатака: губитак водорастворљивих једињења (кише, подземне воде), микробиолошка деградација и размена органских једињења између органских остатака и околног земљишта. Угљенисани остаци мање су подложни микробиолошкој деградацији услед делимичне денатурације органских материја током процеса горења.

На крају, увек остаје нејасно шта је изгубљено током процеса пропадања – не могу се наћи докази за нешто што више није присутно. У циљу утврђивања могућности за нестанак одређених једињења или начин *сипарења* материјала у археолошком контексту често је неопходно спровести симулирање различитих процеса са експериментално припремљеним остацима у лабораторији. Посебан проблем представљају контаминације, односно промене настале у току и након археолошког ископавања.^{7, 12, 18}

Биомолекуларна археологија

Живи процеси обухватају велики број биолошких супстанци које су продукти и саставни део живих организама. Хемијска и биолошка истраживања у највећој мери су расветлила састав и структуру великог броја ових супстанци, њихову функцију у организмима, начин преноса карактеристика са једне на другу генерацију итд.

Органске супстанце које чине највећи део биолошке материје, посебно материје која сачињава структуру и обавља функцију живих организама, припада једној од четири основне хемијске групе: угљени хидрати (или шећери), липиди (или масти), протеини и нуклеинске киселине. Молекули ових супстанци

релативно су велики и често се називају макромолекули или биополимери (неки органски молекули садрже више хиљада атома).¹

Биомолекуларна археологија, као део археометрије, обухвата проучавање древних молекула (посебно нуклеинске киселине, протеине, липиде, угљене хидрате) као продукте живих организама. Најчешће се примењује у идентификацији органских остатака, ДНК из људских ткива и скелетних остатака, као и проучавању генетских параметара биљног и животињског припитомљавања. Циљ истраживања односи се на разумевање процеса очувања и начине коришћења биомолекула у реконструисању палео окружења, али и на процену људске биолошке и културне еволуције.¹⁹

Жаргонска дефиниција *David Reed*-а дефинише молекуларну археологију као примену физичко-хемијских и биолошких техника у проучавању древних налаза и локалитета на атомском или молекулском нивоу. По њему, молекуларна археологија сагледава и рашчлањује прошлост на нивоу молекула. Она најчешће укључује следеће теме: промене у исхрани, развој болести, путеви миграције и молекуларна анализа керамичког садржаја и земљишта. На развој у овом пољу, као и на проучавање комплексних материјала до најфинијих детаља, допринела је појава нове генерације аналитичких хемијских техника и метода средином прошлог века.

Археолошки биомаркер концепт

Биомолекулске или биохемијске компоненте органских материјала у вези са људским активностима могу опстати

на различитим археолошким локацијима и слојевима. Археолошка информација садржана у органским остацима (аморфни, невидљиви) представља биомолекулске структуре природних производа. Структура и изотопски састав(и) датог биомолекула или пакета биомолекула (*хемијски отписак њрста*) могу бити у вези са саставом организама експлоатисаних од људи у прошлости. Овај концепт је фокусиран на липиде, али се може применити на било које друге класе биомолекула (ДНК, протеине, угљене хидрате, пигменте и др). Ова област отвара пут за оспоравање многих дуго-прихваћених археолошких хипотеза и нуди нове погледе на проучавање људских активности у прошлости.

Археолошки биомаркер концепт заснива се на моделу поклапања структура или расподела, *хемијских отписака њрста*, са једињењима и познатим смешама у постојећим организмима који су вероватно експлоатисани у прошлости. Понекад је структура једне компоненте довољна да се дефинише порекло компоненте органског археолошког остатка. Пример је пчелињи восак који се лако препознаје захваљујући смеси алифатичних компоненти. Неке друге класе биљних липида такође се могу повезати са њиховим изворима на основу специфичних угљоводоника, кетона, алкохола и/или масних киселина. Код одређивања специфичног извора или састојка на основу присуства специфичне биомаркер компоненте или смеше компоненти, разматрање природе других састојака може довести до хипотезе одбацивања наведеног извора.

Битан дедуктивни аспект анализе органских остатака је археолошки и палеоеколошки контекст - *да ли је њрсту*

састојка у складу са археологијом и палеоекологијом насеља, региона и/или периода из којеј налаз потиче? У пракси ово разматрање заправо служи да се поједноставе тумачења и повећа дијагностички потенцијал биомаркера, пошто алтернативни извори биомаркера могу легитимно бити занемарени ако немају смисла у археолошком или нпр. палеоеколошком контексту.

Комбинација молекулских структура са стабилним изотопским саставима може да пружи и најистанчајнијим структурама висок ниво биомаркер специфичности. Специфичност овог приступа је унапређена на основу расположивих палео информација. У студијама животињских масти коришћених за кување хране, главне припитомљене животињске врсте или култивисане биљне врсте за испитивано подручје, представљају једине врсте које треба узети у обзир у интерпретацијама, а статистички су највише легитимни извори који остављају значајне остатке.

Више јединствених биомаркер структура повећава сигурност присуства одређеног извора. Међутим, у већини случајева се посматрају измењене, *закључане*, а не оригиналне структуре, што представља посебан аспект биомаркер приступа који захтева познавање хемијских и биохемијских механизма и путева (сл. 2, 3).

Укратко, примена археолошког биомаркер концепта захтева не само познавање биохемијског састава органских продуката експлоатисаних од стране људи у прошлости, већ и познавање начина измене структуре материјала током различитих процеса у археолошком контексту. Многи од механизма и путева

молекулске структурне промене (деградација) су предвидиви, па се на тај начин може повећати интерпретативни оквир.

Структурне разлике између различитих класа биомаркера различито утичу на степен њихове очуваности. Осетљивост највећег броја класа биомолекула на структурне модификације и деградације у животној средини углавном прати следећи поредак: липиди < угљени хидрати \approx лигнин < протеини < нуклеотиди. Овај поредак варира у зависности од спољашњих услова односно окружења и историјата налаза, а суштински је одређен природом веза у различитим класама биомолекула. Требало би напоменути да чак и унутар одређене класе једињења могу постојати суштинске разлике у начину деградације у оквиру различитих поткласа. Поларније супстанце ће генерално бити осетљивије на пропадање, посебно када су присутни есенцијални елементи (азот и фосфор).^{12, 18}

Структура, особине и извори липида

Липиди су најзаступљенија класа органских молекула средње величине, насталих као продукти живих организама (представљају главне састојке резервоара масних ћелија биљака и животиња). Велика су и разноврсна група природних органских једињења широко заступљена у природи и готово у свим намирницама. Појављују се као саставни део археолошког материјала, посебно заробљени у структури керамичких матрица где могу остати готово нетакнути вековима, па представљају потенцијалне *мејте* за анализу археолошких остатака.²¹

Потичу из многих извора, укључујући биљна уља, животињске масти и

воскове. Липиди у чврстом стању, на собној температури, углавном су животињског порекла (*масџи*), док су они у течном стању највећим делом биљног порекла (*уља*). Липидни материјали се интензивно користе у древним и садашњим популацијама као храна, гориво за осветљење, хидроизолациони материјали, везива, састојци у медицини, козметици, у мелемима и балзамима, као декорациони материјал и др.²¹

Липиди се дефинишу, не тако прецизно, као компоненте биолошког материјала које су више растворљиве у органским растварачима него у воденом медијуму. Смеша хлороформа и метанола (у запреминском односу 2:1) најчешће се користи за екстракцију липида из биолошког материјала. Присутни су у виду великог броја структура услед способности атома угљеника да се веже у широком спектру изузетно комплексних молекула (линеарни, разгранати и моно или полициклични угљеникови ланци -сл. 4). Састоје се углавном од угљеника, водоника и кисеоника, и у мањој мери од фосфора, азота и сумпора.¹⁸ Засићени делови функционалне групе угљоводоника дају липидима алифатичан карактер, а тиме и хидрофобна својства што ограничава њихов губитак путем процеса испирања (мали поларни делови молекула су хидрофилни). На хемију липида утиче низ процеса попут оксидације, хидратације, дехидратације, декарбоксилације, естерификације, ароматизације, хидролизе, хидрогенизације и полимеризације.^{21, 22}

У живим организмима липиди имају низ структурних, метаболичких и физиолошких улога. У животињском холестеролу (сл. 5/4) функционише као структурна компонента ћелијских мембрана и као интермедијер стероидних хормона

и жучних киселина (служе да растворе масти приликом варења). Масне карбоксилне киселине (ФА) саставни су део триглицерида као главних компоненти масти и представљају важна складишта енергије, али такође и фосфолипида који су главне компоненте ћелијских мембрана. Други дуги ланац алкил једињења (алкохола, кетона, естара воскова -сл. 5) широко се јавља као компонента природних воскова (пчелињи и биљни). Бројна друга полициклична дитерпеноид и тритерпеноид једињења јављају се у природним смолама произведеним од стране виших биљака.¹⁸

На структуру липида могу утицати многе *in situ* хемијске или микробиолошке промене. Липиди имају ограничен број реактивних места, па су релативно мање осетљиви на структурне модификације и деградације од полисахарида, протеина и нуклеотида. Губици биомолекула процесом дифузије, као и микробиолошка активност, биће смањени уколико липиди чине саставни део минералних матрица (приступ потенцијалним липидним подлогама је отежан). Апсорпција липида у поре неглазиране керамике такође ће инхибирати приступ микроорганизмима. Иако адсорпција биомолекула на површини глине или иловаче може ограничити њихову доступност као подлоге за микроорганизме, адсорбовани молекули на површини глине у присуству воде и других реактивних врста могу подстаћи одређене негативне реакције (нпр. хемијска хидролиза (не биолошка)). Минералне матрице, као што је неорганска апатит фаза (потиче од костију и керамичких материјала), представљају средину у коме су органски молекули делимично заштићени од микробиолошке деградације. У веома

густим или стакластим материјалима, микробиолошка активност ће бити ограничена због смањене порозности и пропустљивости хранљивих састојака. Добру заштиту могу представљати и органске матрице, као што су карбонизовани остаци и агрегати органске материје (нпр. наслаге битуминозних смола, оставе, остаци меких ткива итд.), енкапсулација органских остатака са ботаничким остацима (дехидрирани али не карбонизовани) и фосилизованим изметом, као и присуство супстанци које су природни конзерванси (нпр. антиоксиданти или инхибитори). Липиди су добро очувани у угљенисаним површинским остацима вероватно због микрокапсулације која инхибира микробиолошку активност. Феномен жртвеног распадања, који се ослања на преференцијално пропадање депонованих ко-биолошких органских материја, може послужити за очување липида. Лабораторијски експериментални резултати дозирањем великог броја масних ацил и других алифатичних липида у керамичке реплике под оксичним и аноксичним условима, недвосмислено показују да је ацил-липид деградација (животињске масти и маслиново уље) у великој мери успорена под аноксичним условима. Нутриционистичка ограничења, посебно за азот и фосфор, такође могу послужити за лимитирање напретка деградационих процеса (присуство ових и других елемената ограничава приступ есенцијалним елементима што утиче да активност микроорганизама неминовно буде успорена или заустављена).^{12, 18, 21, 22}

Класификације и идентификације засноване на липид биомаркерима

Најчешће коришћени метод за идентификацију порекла липида у археолошким материјалима ослања се на поклапање структура појединачних једињења, или релативних пропорција компонента смеша једињења са онима које се налазе у данашњим биљним и животињским природним производима вероватно експлоатисаним и у прошлости. Међутим, број ових експлоатисаних врста углавном је био далеко већи него што је то данас познато. Идентификација порекла органских остатака у будућности може бити осујећена због недостатка хемијских података у одговарајућим савременим референтним материјалима. Овај проблем може се превазићи проширивањем испитивања хемијског састава данашњих биљака и животиња као референтних материјала, са посебним освртом на оне које би могле бити од значаја у прошлости. Испитивање археолошких макроскопских биљних и животињских остатака може да помогне у циљању материјала за хемијске анализе потребне за формирање неопходних база података.^{11, 23}

Недостатак липид резидуалних анализа огледа се у томе што липиди нису специфични за једну врсту хране и што не постоји један метод погодан за анализу свих врста липида.^{11, 23} Употреба биомаркера у суштини се заснива на хемотаксономији и филогенетским принципима, односно на основи познатих хемосистематика супстанци насталих у биљкама и животињама. Прате се сталне и алтернативне карактеристике структура липида између врста истог рода животиња и виших биљака, односно карактеристике главних класа липида које могу

бити од значаја у идентификацији порекла органских остатака. Поред тога, прати се и степен сигурности који може бити одржан у тумачењима базираним на основу специфичне класе једињења, заједно са варијацијама у посебним структурним карактеристикама. У принципу они организми који, на морфолошким и другим основама таксономије, имају довољно блиске афинитете да буду врсте у оквиру истог рода, обично имају блиске односе у вези са њихових липидним саставом. С обзиром да је расподела липида у археолошким материјалима подложна процесу пропадања, велика пажња мора се посветити доношењу закључака на основу пажљиве варијације у изобиљу компоненти које имају реактивне функционалне групе, (нпр. повезивање полинезасићених масних киселина и естара у триацилглицероле и фосфолипиде).

Иако тумачења на основу анализе појединачних липид биомаркера могу бити успешна, већи потенцијал постоји када се они комбинују са анализом других класа биомолекула (ДНК, протеини, угљени хидрати и др.), радиокарбонским датирањем, мерењем стабилног изотопског односа ($\delta^{13}\text{C}$), анализом трагова елемената, као и палаеоботаничким подацима и традиционалним археолошким информацијама.

Најједноставнија разлика између биљног и животињског липидног састава ослања се на карактеристичне биосинтетисане стероле. Холестерол је најзаступљенији животињски, док су кампестерол и ситостерол два главна биљна стерола. Слаба заступљеност стерола у липидним екстрактима, као и тенденција ка хемијској деградацији, чини ову чињеницу недовољно применљивом. У прилог овоме иде и велика могућности

за контаминацију (са руку се путем зноја може нанети додатни холестерол приликом руковања налазима).

Иако се терпеноид једињења (дигтерпеноиди и тритерпеноиди) широко јављају у биљним и животињским врстама, највећа археолошка примена односи се на карактеризацију дигтерпеноид једињења у циљу утврђивања природе, порекла и могућег средства за производњу смола и деривата смола, као што су катрани на бази дрвета и црне смоле.

Значајан потенцијал имају алкил једињења дугог ланца у заштитним восковима као продуктима биљака и животиња широко распрострањених у природи. Врсте једињења од интереса у овом контексту су алкохоли дугог ланца, угљоводоници, кетони, алдехиди, естри воскова и др. С обзиром да су ова једињења у потпуности засићена и садрже неколико, ако их има (у случају алкана), реактивних функционалних група, релативно су отпорна на пропадање у археолошком контексту. Иако многи природни воскови садрже релативно сличне класе једињења, релативне пропорције појединих компоненти могу бити коришћене као *описци* *ирстију* за идентификацију специфичног порекла непознатог испитиваног воска.^{18, 21}

Глицериди (Ацилглицероли)

Уља и масти, као велика подгрупа липида, чине смеше триглицерида, познатих и као триацилглицероли. Они су у основи естри глицерола и масних киселина, а поред тога садрже и мање количине других једињења која укључују стероле и витамине. Физичке и хемијске особине појединих уља и масти одређене су природом и размерама масних киселина које улазе у састав триглицерида. Триацилгли-

цероли животињских масти садрже више засићених масних киселина од оних у биљним уљима, па су самим тим у чврстом стању на собној температури.²¹

Биљна уља и млечне и животињске масти су се интензивно користили у процесима припреме хране, за осветљење (лампе), али и као састојци козметике, мелема и лекова.²⁴ На Медитерану је познато маслиново, бадемово, рицинусово, кокосово, ланено, палмино, маково, ротквино, шафраниково, сусамово уље и др. Подаци о употреби уља изведени су из старих извора (Теофраст, Дисокорид, Плиније), а помажу да се разјасни распознавање биљака гајених за њихова уљана семена.^{24, 25}

Липиди оксидују под дејством кисеоника током дужег периода. Нека уља (познатија као сува уља) очврсну приликом оксидације, док већина других, као и масти, не очврсне већ постепено развија непријатан укус и бајат мирис.¹ Честа оксидација незасићених, а посебно полинезасићених масних киселина у молекулу триацилглицерола изазива полимеризацију и процесе умрежавања у току очвршћавања сувих уља (ланено, маково, орахово, тунг уље) као високо полинезасићених уља широко коришћених као везива бојеног слоја, лакова и премаза. Производи оксидационих процеса липида су генерално α , ω - дикарбонска масна киселина, хидрокси и дихидрокси карбонске киселине (због релативно високе растворљивости у води ретко се срећу на археолошким налазима).²¹

Само неколико врста липида може бити идентификовано на основу карактеристичних одлика FA профила у присуству карактеристичних биомаркера. Ово је посебно ограничено уским распо-

ном масних киселина које чине већину масти и уља. Тумачења су и даље компликована због осетљивости незасићених масних киселина на полимеризацију, оксидацију и микробиолошку деградацију. Тумачење FA профила у остацима хране посебно је тешко због генералне доминације палмитинске и стеаринске киселине, трошења незасићених ацил ланаца након загревања, као и мешања оригиналног материјала који чини FA профил веома неспецифичним. Количина слободних масних киселина повећава се процесом *стаарења* и одражава степеном хидролизе триацилглицерола. Дакле, природа деградационих производа зависи од састава оригиналног материјала, третмана материјала пре или за време њеног коришћења, присуства интерактивних врста у материјалу, као и услова средине. Процес деградације, као и сличности у саставу многих биљних уља и начин њиховог мешања, утичу на појаву сложених молекулских структура које често онемогућују идентификацију оригиналног ботаничког извора.^{18, 21}

Разлику између биљних уља и животињских масти може да потврди присуство одређених масних киселина или других сродних ацил-липида (триацилглицероли, ди- или моно-ацилглицероли). Животињске и млечне масти могу се разликовати од биљних уља на основу расподеле масних киселина (животињске масти обично садрже нижи садржај палмитинске (C16:0) од стеаринске киселине (C18:0)). Биљни липиди генерално имају паран угљеников ланац масних киселина. Присуство непарно нумерисаних правих ланаца масних киселина (C₁₅, C₁₇ и C₁₉) и, у неким случајевима, разгранат ланац масних киселина сматра се карактеристиком масти преживара (овце, го-

веда, козе, итд.). Преживарска маст може се разликовати од непреживарске (нпр. свињска) тиме што садржи само C18:1 ΔD9 изомер. Липиди морских продуката ређе су проучавани, али и код њих у неким случајевима постоје одређене смернице и специфичности.^{18, 21, 26}

Детекција контаминената

Контаминације се могу јавити у виду једињења која су мигрирала из околине, најчешће земље, или као продукти микроорганизама. Липидна фракција из околног земљишта препознаје се поређењем састава са липидним екстрактима на/у фрагментима. Утврђено је да су липиди из земљишта релативно константног састава (комплексне смеше липида пореклом из биљака, животиња и микробиолошких наноса), док су екстракти са фрагмената генерално једноставнијег и променљивијег састава.

Присуство бактеријске контаминације је прилично тешко открити најпре из разлога што су многи липиди као продукти микроорганизама такође и продукти биљака и животиња. Иако код неких бактерија доминирају продукти масних киселина са правим ланцем, недостатак разгранатог ланца не сме се узети као недостатак микробиолошке контаминације.

Контаминације након ископавања могу се јавити развојем бактерија или гљивица уколико се налази чувају у неодговарајућим условима (нпр. топла и влажна средина). Иако нису биолошког порекла, фталат-пластификатори су често примећени као контаминенти у липидним екстрактима, а потичу од неадекватне амбалаже (нпр. кесице, бочице са поклопцима, танак филм који пријања уз узорак). Пластификатори су лако препоз-

нати GC и GC-MS анализом на основу својих карактеристичних ретенционих времена и масним спектром који је доминантан изобиљем пикова за јон m/z 149. Други уобичајени контаминенти укључују липиде пренете са коже услед руковања предметом (сквален, холестерол). Сквален је један од главних липидних компонената људских отисака прстију кога је лако препознати анализом масеног спектра. Велики број двоструких веза у структури сквалена чини га подложним деградацији, па би било готово невероватно да преживи од античких времена.^{7, 18}

Аналитичке технике - потенцијал и ограничења

Узорковање

Главни изазови у области анализе органских остатака везаних за керамику леже у селекцији узорака, аналитичког протокола и археолошког тумачења добијених хемијских информација. Проучавање мале количине сложених органских материјала сачуваних у археолошком контексту ствара много аналитичких и методолошких изазова.

Липид анализа је микродеструктивни тип анализе која се у овом контексту врши на три врсте узорака: видљиви остаци, керамички апсорбовани остаци и матрикс (обично земљиште). За видљиве остатке довољан је узорак на нивоу чиодине главе, док је за спрашени керамички налаз потребно око 0,1 g узорка. Резервни анализирани материјал даје одличну могућност за понављање анализа, изотопску анализу и др. Како би се анализа употпунила изузетно је важно познавати контекст, типологију налаза, као и локацију фрагмента код предмета (код посуде

руб, тело или основа). Идеално гледано, профил целог суда дозвољава вишеструко узорковање, што није често изводљиво.

Сепарациона екстракција видљивог дела материјала омогућава упоређивање са липидима апсорбованим у матриксу посуде, док су експерименти са тзв. градијентима концентрације (лонгитудинални делови налаза са унутрашње и спољашње стране) посебно корисни када узорци земље нису доступни. Високе концентрације липида на унутрашњим деловима посуде могу указати на контакт, односно употребу супстанци богату липидима. Област кључања течности на зиду посуде за кување може представљати добар извор липида.

Потенцијална миграција контамината може се одредити на основу хемијског састава земљишта које садржи и своју сопствену липид фракцију често различиту од оне апсорбоване у матриксу налаза. Узорке земљишта (око 10 g) треба узети непосредно поред керамичких налаза као и из спољашњости посуде (земљиште у унутрашњости може да садржи део оригиналног садржаја посуде). Уколико су дршке посуде доступне могу се користити као контролни узорци, посебно када узорци земље нису доступни.

Најбоље је када аналитичари спроведу одговарајућа узорковања на лицу места уз сагледавање целокупне групе налаза. Избор узорака може бити компликован с обзиром да је остатке често тешко разликовати од секундарних наслага, али и услед чињенице да површински остаци често изгледају као спаљена каша или чађ. Главни проблем током узорковања представљају контаминација и деградација јер су органски остаци обично присутни у малим количинама и често имају

низак органски садржај (обично варира између 5 и 50%). Требало би максимално минимизирати или потпуно избећи манипулацију узорком (отисак прста садржи липидну фракцију, односно молекуле масних киселина, холестерола и естара воска). Не треба вршити третмане *ифрање* налаза (могућност губитка површинских остатака и лабилније апсорбованих састојака, наношење нечистоћа), консолидацију керамике, употребу посебних оловака и лакова за означавање, као и употребу неадекватне амбалаже (PVC, винил). Узорке органских остатака најбоље је паковати у растварачом очишћене стаклене посуде, док се керамички фрагменти за анализу пакују у алуминијумску фолију, а затим у *зип* кесеце.

За процену будућих резултата изузетно је важно снимање локација нетакнутих површинских остатака на посуди, боје, текстуре и дебљине остатака (фотографије високе резолуције и увећања). Употреба скенирајућег електронског микроскопа (SEM) пре узорковања помаже у визуелном откривању претходно неоткривених контаминација (као што су раст плесни).

Ако ће анализа органских остатака бити спроведена у будућности, чување и управљање колекцијама треба да буде прилагођено превенцији на контаминацију и деградацију (чување узорака на мрачном, хладном и сувом месту у адекватној амбалажи). Ова фаза није довољно испитана и може утицати на додатне хемијске промене.^{7,27}

Аналитичке технике и методе

Шира примена органске резидуалне анализе почиње тек од осамдесетих година прошлог века као резултат побољшања микроаналитичке инструментације и

појаве већег интереса у функционалним аспектима археолошких керамичких остатака.

Пре почетка анализе често је неопходан преглед студија античке, односно класичне литературе, средњовековних списа као врсте путоказа који се односи, у зависности од врсте узорка, на старе рецепте за припрему хране, припреме одређених смола, античке рецепте за припрему лекова, балзама и сл., а везаних за одређену епоху и географски простор.

Студија мале количине комплексних смеша сличних и деградираних органских једињења ствара много аналитичких изазова. Карактеристике смеше у целини могу се одредити на нивоу укупног узорка и то обично упоређивањем са хемијским *ојџиском џрстџа* референтних материјала. Информације добијене овим техникама обично се користе за упоређивање и класификацију узорака и одређивања даљих аналитичких стратегија. Узорак се може поделити и на фракције које се детаљно анализирају на молекулском нивоу. Међутим, сваки корак раздвајања и припреме захтева додатни узорак. Неки кораци раздвајања могу узроковати и губитак података услед непотпуног раздвајања, губитака узорка или нежељене хемијске промене у току процеса раздвајања. Пожељније раздвајање од препаративног дељења на фракције пружа аналитичка микроприролиза која примењује *on line* термалну фрагментацију пре анализе. Ова техника има ту предност да се мали узорци анализирају на широк спектар једињења током једне анализе. Аналитичком пиролизом може се направити разлика између узорака земљишта и испитиваних остатака.

Органски елементарни састав остатака може се утврдити квантитативном анализом угљеника, водоника и азота присутних у гасу насталим сагоревањем малог узорка (CHN анализа). Стабилна изотопска анализа (SIA) стабилних азотних и угљеникових изотопа даје информацију везану за однос $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ и $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ у узорку. Пошто ови односи зависе од метаболичких система одређених организама, могу се посматрати као показатељи типа оригиналног материјала присутних у остатку (врсте животиња, риба или биљака).⁷

Прелиминарне анализе органских остатака помоћу техника *инфрацрвена сџекџроскопџија* са Фуријеовом *џрансформацијом* (FTIR), *нуклеарно-мајнејно-резонанџна сџекџроскопџија* (NMR) или масено-спектроскопских техника (DI-MS, ESI-MS) обезбеђују хемијски отисак прста, пружају опште информације о природи органског материјала и корисне су за пружање почетне хипотезе о присутним супстанцама. Оне могу бити комплементарне са GC-MS техником у анализи органских остатака.^{7, 12, 24}

Изотопска анализа специфичних једињења појединих липида или аминокиселина помоћу *Gas chromatography-isotope ratio mass spectrometry* (GC-IRMS) има потенцијал да пружи проширен увид у порекло многих органских једињења.⁷

Техникама заснованим на директној масеној спектрометрији може да се смањи манипулација узорком и време за анализу. Технике *Direct Inlet-Mass Spectrometry* (DI-MS), *Direct Exposure-Mass Spectrometry* (DE-MS) и *Direct Temperature Resolved Mass Spectrometry* (DT-MS) показале су свој потенцијал за карактеризацију супстанци у смолама

археолошких налаза и уметничким делима. Осим тога, масено спектроскопским техникама заснованим на директном увођењу микроузорка у јонизациони извор могуће је, у брзом појединачном току, детектовати присуство смеше смоластих материјала са другим органским супстанцама.²⁴

Аналитичка пиролиза-масена спектрометрија (Py-MS) примењује се у проучавању чврстог биоматеријала различитог порекла. Показала се као брз метод *описна њрста* посебно погодан за препознавање различитих класа једињења у сложеним материјалима. Py-GC/MS омогућава директну анализу чврстих узорака и одлична је техника за биоидентификацију сложених смеша смола, воскова и др.⁷

High-temperature Gas Chromatography (HT-GC) анализа омогућава пружање информације о саставу који би био изгубљен када би се користио конвенционални деградативни приступ у ацил-липид анализи. Важна предност ове технике је способност откривања веома широког спектра класа липида у оквиру једног аналитичког тока.⁷

Присутно је више радова који се баве применом технике *њечна хромањографија високе њерформансе-масена сјекњрометрија* (HPLC-MS) у анализи остатака хране и пића на археолошким керамичким налазима. HPLC-MS је моћан метод за одређивање масти и уља на молекулском нивоу (триацилглицерола) који имају велики број угљеникових атома и високу тачку кључања. Ова техника пружа значајне, али не и потпуне информације, што указује да ју је најбоље користити у тандему са другим сложеним техникама (GCMS или директне

MS методе). Анализа остатака пића и то најпре вина на чашама или амфорама (чак и анализа остатака вина старих 4000 п. н. е.) показује задовољавајуће резултате LC-MS/MS анализом.^{28, 29}

Базирана на способности да раздваја компоненте сложених органских смеша *јасна хромањографија-масена сјекњрометрија* (GC-MS) успешно се користи у идентификацији многих органских археолошких остатака. Иако је код ове технике неопходно време за припрему узорка (екстракција, пречишћавање, хидролиза и дериватизационе реакције), као и искуство за добијање података и њихову евалуацију, она се за сада показала као непревазиђена у идентификацији присутног молекулског састава, односно липид биомаркера у уметничким делима и археолошким налазима.

На слици бр. 6 дат је пример тотал-јон хроματοграма (GC-MS) једног од узорака који је коришћен за карактеризацију органских остатака у узорку керамичке римске посуде из Антиноје (Египат). Резултати указују на борову и црну смолу (катран) као оригинални материјал.³⁰

Научна истраживања јасно показују да су аналитичке методе на бази масене спектрометрије алати без премца за добијање детаљне информације везане за састав узорка у овом контексту (хемијска структура и расподела једињења), као и за поуздано идентификовање сложених материјала у вези са културним добрима.

Током година аналитичари у музејским лабораторијама и институтима прикупљају бројне референтне материјале и формирају базе података специфичних спектара археолошких и уметничких материјала што знатно олакшава будући рад у овој области.

Референце:

1. Z. Goffer, *Archaeological Chemistry*, John Wiley & Sons, Inc., New Jersey, 2007, 209-318.
2. H. Bluff, *Ceramics Manufacture and Use*, Delaware Department of Transportation, USA, Archaeology Series 175 (2002) 14-58.
3. Edited by Jane Balme and Alistair Paterson, *Archaeology in practice : a student guide to archaeological analyses*, Blackwell Publishing Ltd, 2006, 238.
4. R. Zlatunić, Nastanak gline, tehnologija i mineralogija keramike, *Histria archaeologica*, 36/2005, str. 61-114.
5. T. Douglas Price, J. H. Burton, *An Introduction to Archaeological Chemistry*, Springer New York Dordrecht Heidelberg, London, 2011, 47-48.
6. A. Mark Pollard, Carl Heron, *Archaeological Chemistry - Second Edition*, The Royal Society of Chemistry, Cambridge CB4 0WF, UK, 2008, 98-143.
7. T. F.M. Oudemans, *Molecular Studies of Organic Residues Preserved in Ancient Vessels*, Ph.D. Thesis Leiden University, 2006, openaccess.leidenuniv.nl/handle/1887/5418
8. M. W. Gregg, *Organic Residue Analysis and The Earliest Uses of Pottery in The Ancient Middle East*, Ph.D. Thesis, Department of Anthropology, University of Toronto, 2009.
9. D. Urem-Kotsou, K. Kotsakis, B. Stern, *Defining function in Neolithic ceramics: the example of Makriyalos, Greece*. In M. Budja (ed.) *Documenta praehistorica XXIX*: 109-118. Ljubljana: 9th Neolithic studies, 2002.
10. R. I. Curtis, *Ancient Food Technology*, Koninklijke Brill, NV, Leiden, 2001.
11. M. W. Gregg, *Organic Residue Analysis and The Earliest Uses of Pottery in The Ancient Middle East*, Ph.D. Thesis, Department of Anthropology, University of Toronto, 2009.
12. R. P. Evershed, *Organic Residue Analysis in Archaeology: The Archaeological Biomarker Revolution*, *Archaeometry* 50 (6) (2008) 895-924.
13. Stern, B., Heron, C., Serpico, M., and Bouiau, J., *A comparison of methods for establishing fatty acid concentration gradients across potsherds: a case study using Late Bronze Age Canaanite amphorae*, *Archaeometry* 42 (2000) 399-414.
14. P. E. McGovern, J. Zhang, J. Tang, Z. Zhang, G. R. Hall, R. A. Moreau, A. Nuñez, E. D. Butrym, M. P. Richards, C.-S. Wang, G. Cheng, Z. Zhao, C. Wang, *Fermented beverages of pre- and proto-historic China*, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 101 (17) (2004)
15. A. J. Koh., P.P. Betancourt, *Mediterranean Archaeology and Archaeometry*, Vol. 10, No. 2, pp. 15-23.
16. M. R. Guasch-Jané, C. Andrés-Lacueva, O. Jáuregui, R. M. Lamuela-Raventos, *First evidence for white wine in ancient Egypt from Tutankhamun's tomb*, *Journal of Archaeological Science* 33 (2006) 1075-80.
17. M. R. Guasch-Jané, M. Ibern-Gómez, C. Andrés-Lacueva, O. Jáuregui, R.M. Lamuela-Raventos, *Liquid chromatography with mass spectrometry in tandem mode applied for the identification of wine markers in residues from ancient Egyptian vessels*, *Analytical Chemistry*, 76 (2004) 1672-7.
18. R. P. Evershed, *Biomolecular Archaeology and Lipids*, *World Archaeology*, *Biomolecular Archaeology* 25 (1) (1993) 74-93.
19. E. Christian Wells, *Encyclopedia of Global Archaeology*, Springer New York, 2014, 910-911.
20. *Molecular Archaeology, Vision Statement*, <https://sites.google.com/site/moleculararchaeology/>
21. M. P. Colombini, F. Modugno (Ed.), *Organic Mass Spectrometry in Art and Archaeology*, John Wiley and Sons, Ltd, Italy, 2009.
22. *70th Annual Meeting of the Society of American Archaeology* (Salt Lake City, 30 March - 3 April 2005), Theory and practice of archaeological residue analysis, *British Archaeological Reports International Series* 1650 (2007)
23. M. Pollard, C. Batt, B. Stern, S. M. M. Young, *Analytical Chemistry in Archaeology*, Cambridge University Press, Cambridge, 2007, 137-176, 294-319.
24. M. P. Colombini, F. Modugno, E. Ribechini, *Organic mass spectrometry in archaeology: evidence for Brassicaceae seed oil in Egyptian ceramic lamps*, *Journal of Mass Spectrometry* 40 (2005) 890-898.
25. M. Serpico, R. White, *Oil, fat and wax, in Ancient Egyptian Materials and Technology*, P. Nicholson and I. Shaw (Eds), Cambridge University Press, Cambridge, 2000, 390-429.

26. M. S. Copley, H. A. Bland, P. Rose, M. Horton, R. P. Evershed, *Gas chromatographic, mass spectrometric and stable carbon isotopic investigations of organic residues of plant oils and animal fats employed as illuminants in archaeological lamps from Egypt*, *Analyst* 130 (2005) 860-871.
27. University of Bradford homepage/Organic Residue Analysis/Sampling Protocol, <http://www.bradford.ac.uk/life-sciences/business-and-outreach/archaeological-sciences/organic-residue-analysis/sampling-protocol/>
28. T. Craig, P. Grave, S. Glover, *HPLC-MS characterisation of adsorbed residues from Early Iron Age ceramics, Gordion, Central Anatolia*, *New Directions in Archaeological Science, Terra Australis*, 28 (2009) 203-212.
29. H. Barnard, A. N. Dooley, G. Areshian, B. Gasparyan, K. F. Faull, *Chemical evidence for wine production around 4000 BCE in the Late Chalcolithic Near Eastern highlands*, *Journal of Archaeological Science* 30 (2010) 1-8.
30. M. P. Colombini, G. Giachi, F. Modugno, E. Riberchini, *Characterisation of organic residues from pottery vessels of the Roman age from Antinoe (Egypt)*, *Microchemical Journal* 79 (2005) 83-90.

Lipid Biomarkers in Organic Residues from Archaeological Ceramics

Chemical analysis of organic residues has the particular importance in functional studying of ceramic findings. More and more studies focused on analysis of lipids show potential of chemical analyses of visible and absorbed organic residues in the identification of vessel function (food preparation, storage of materials, transport etc.) as well as dietary habits in the past. These analyses contribute to more complete archeological interpretation i.e. clarification of different aspects of past societies such as socio-economic development, the organization of production and trade, and the mechanisms of cultural interaction. Lipids, as a widely occurring class of biological organic molecules in living organisms, are usually an integral part of complex organic mixtures present at great number of archeological findings. The first part of the paper refers to analysis of organic residues preserved in archaeology ceramics. Different forms of organic residues are considered, processes

of their transformation in original context as well as during and after archaeological context. Special attention was paid to processes of preservation of lipid biomarkers in relation to the chemical activities and processes present in original context, influence of the environment on preservation of biomarkers during archaeological context as well as to the problem of contamination of samples after archaeological excavations. A part of the paper refers to structure, properties and sources of lipids as present biomarkers in archaeological complex organic mixtures as well as to their classification and identification. Laboratory science experiences in sampling of organic residues with appropriate analytical protocol for their analysis are considered in the paper. A review of analytical techniques and methods which are used in the worldwide for chemical analysis of complex organic mixtures is given i.e. determination of lipids as significant archaeological biomarkers.

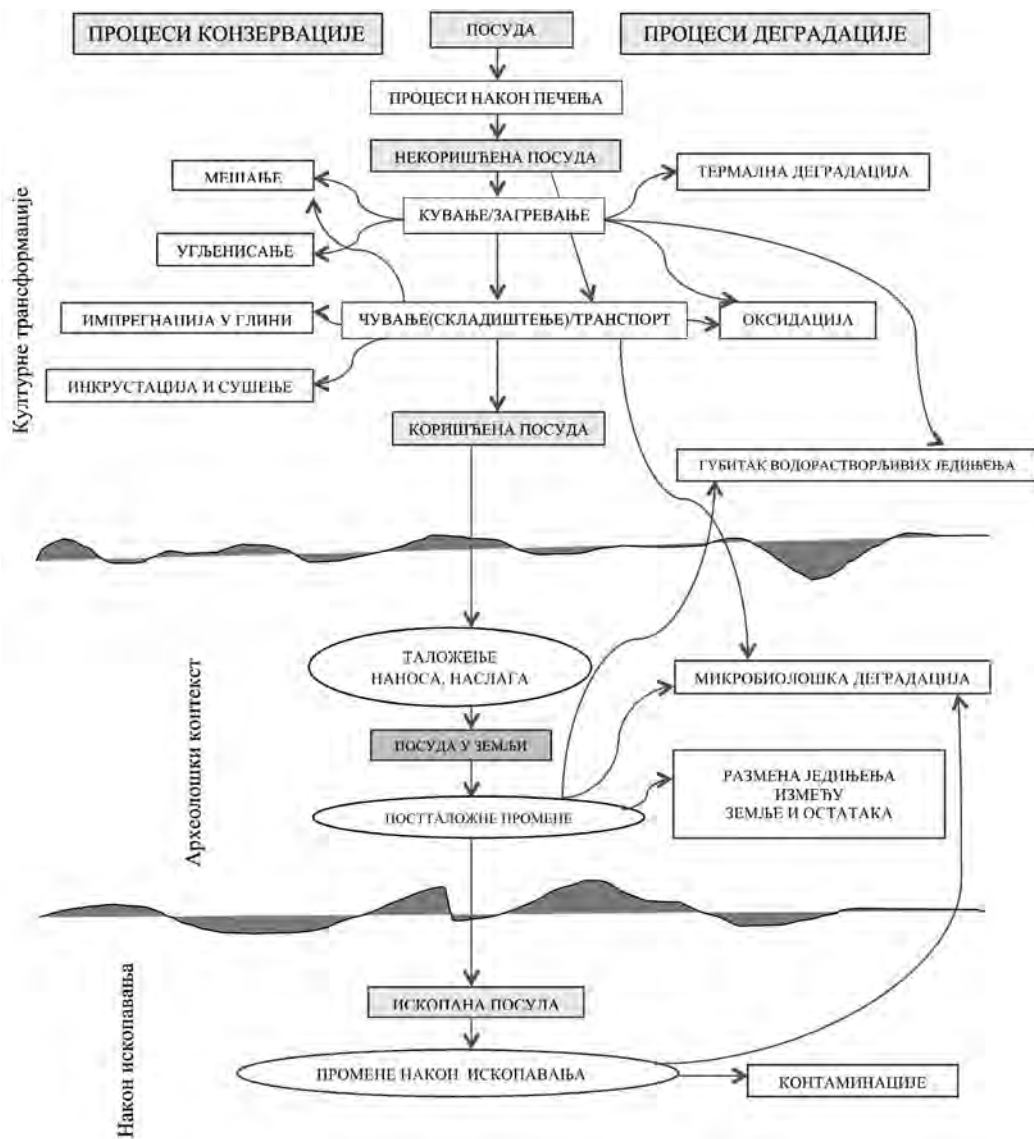
Slobodan Bogojevic

Les biomarqueurs lipidiques dans les résidus organiques de la céramique archéologique

L'analyse chimique des résidus organiques a une importance clé dans l'observation fonctionnelle des trouvailles de céramique. Un nombre de plus en plus grand d'études focalisées sur l'analyse des lipides montre le potentiel des analyses chimiques des résidus organiques visibles et absorbés dans le rapprochement des questions liées au constat de la fonction des récipients archéologiques (préparation de la nourriture, stockage du matériel, transport), ainsi que du régime alimentaire dans le passé. Ces analyses permettent une explication et une interprétation archéologiques plus complètes, c'est-à-dire une élucidation des divers aspects des communautés anciennes, comme le sont le développement socio-économique, l'organisation de la production et du commerce, tout comme le mécanisme de l'interaction culturelle. Les lipides, comme groupe largement répandu de molécules organiques biologiques dans les organismes vivants, forment la partie intégrante des mélanges organiques complexes présents sur un grand nombre de découvertes archéologiques. La première partie de l'étude concerne l'analyse des résidus organiques présents sur la céramique archéologique. On prend en considération les dif-

férentes sortes de résidus organiques, les processus de leur transformation dans le contexte original, tout comme au cours et après le contexte archéologique. Une attention particulière est consacrée aux processus de conservation des biomarqueurs lipidiques par rapport aux activités et aux processus chimiques présents dans le contexte original, à l'influence de l'entourage sur la conservation des biomarqueurs dans le contexte archéologique, ainsi qu'au problème de contamination des exemplaires après les fouilles archéologiques. Une partie du travail se rapporte sur la structure, les caractéristiques et les origines des lipides comme biomarqueurs présents dans les mélanges organiques archéologiques complexes, ainsi que sur leur classification et leur identification. Dans cette étude, on prend en considération les expériences des laboratoires scientifiques liées aux échantillonnages des résidus organiques et le protocole analytique adéquat pour leur analyse. Une vue d'ensemble est donnée des techniques et des méthodes analytiques qui s'utilisent dans le monde pour l'analyse chimique des mélanges organiques complexes, c'est-à-dire une qualification des lipides comme biomarqueurs archéologiques d'importance.

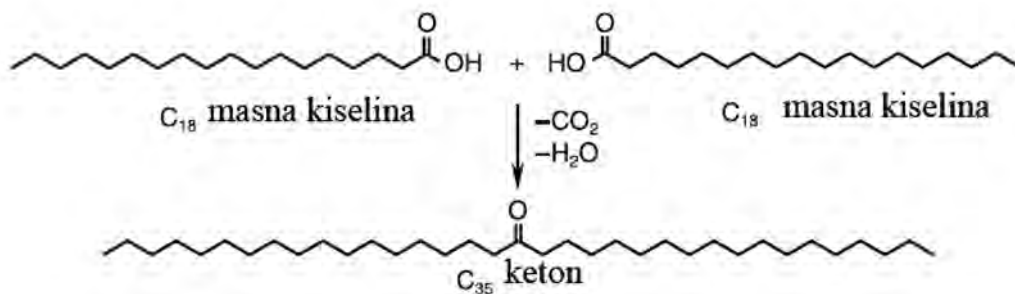
Slobodan Bogojevic



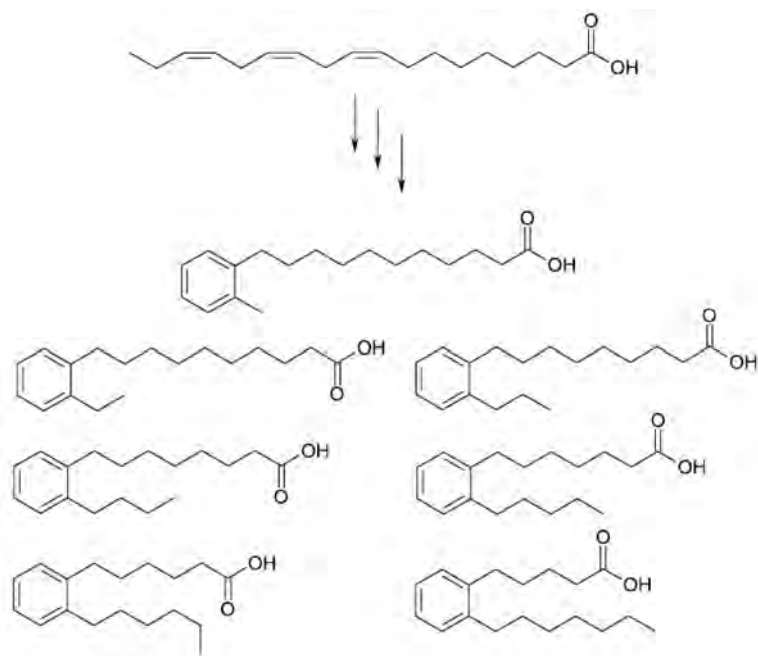
Сл. 1 – Процеси трансформације органских остатака везаних за археолошку керамичку посуду⁷

Керамички судови (грнчарија)	Земља (тло) и седименти
Садржај посуде*	Тубриште и други органски отпад***
Површински или видљиви остаци****	Пољопривредно тло***
Апсорбовани остаци*****	Културни слојеви**
	Ритуалне наслаге**
Људски и животињски остаци	Смоле и битуменозни материјали
Скелетни остаци****	Природне смоле*****
Мека ткива***	Биљни каучук**
Мумије****	Фосилни остаци***
	Нафтни битумени***
Биљни остаци	Разноврсни материјали
Остаци са подводних локалитета (остаци засићени водом)***	Стаклене посуде**
Осушени остаци**	Металне посуде**
Карбонизовани остаци*	Предмети од камена**
	Оставе, нпр. <i>bog butter</i> **
Боје и пигменти	
Текстил****	
Уметност****	

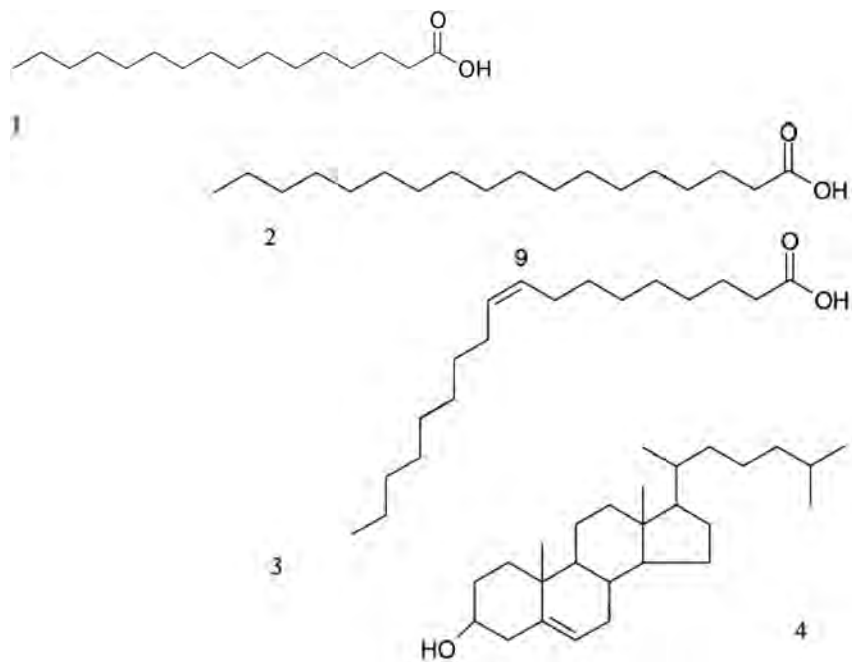
Табела 1: Извори органских остатака у археолошком запису. Број звездица (***** = висок до * = низак) се односе на значај извора у погледу своје квалитетности за добијање археолошкој релевантној информацији и појаве у запису (географска распрострањеност и стопа налажења на ископавањима).¹²



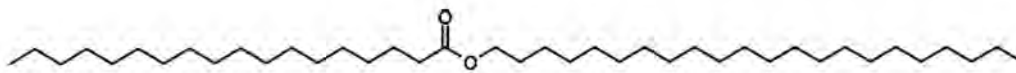
Сл. 2 - Липид биомаркери настали термичком обрадом засићених масних ацил-липида¹²



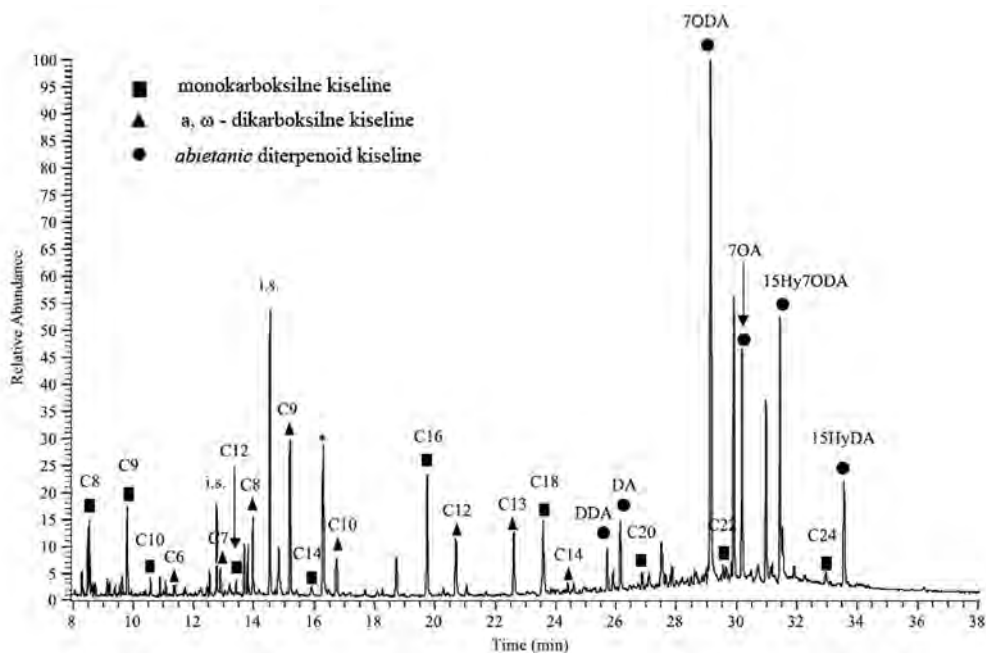
Сл. 3 - Високо нестабилне незасићене масне киселине очуване процесима циклизације и ароматизације¹²



Сл. 4 - Структуре масних киселина и холестерола дејектованих у археолошким остацима: 1) хексадеканска (палмитинска) киселина $C_{16:0}$; 2) октадеканска (стеаринска) киселина, $C_{18:0}$; 3) *cis*-9-октадеценска киселина (олеинска киселина, $C_{18:1}$), 4) холестерол једињење¹⁸



Сл. 5 - C_{40} естер воска чији састав чини C_{18} масна киселина (октадеканска киселина или стеаринска киселина, $C_{18:0}$) и C_{22} алкохол²³



Слика 6: Карактеризација органских остатака у узорку керамичке римске посуде из Анџиноје (Етиопија): њон-тал јон хроматограм (иофил липидних једињења) киселе фракције узорка 111 (киселе врсте су ирисуйне као TMS естри); *i.s.* - унутрашњи стандарди (хексадеканска и иридеканска киселина); * - филај (конјаминација)³⁰