

Oznaczenie związków organicznych w próbkach naczyń pochodzących z grobów halsztackich z Domasławia 10/11/12, gm. Kobierzyce

Badania¹ dotyczyły ośmiu próbek pochodzących z wybranych naczyń z inwentarzy grobowych z cmentarzyska z wczesnej epoki żelaza z miejscowości Domasław, gm. Kobierzyce. Ich celem była identyfikacja i oznaczenie związków organicznych (kwasy tłuszczowe) z uwzględnieniem markerów roślinnych i zwierzęcych z zastosowaniem chromatografii gazowej łączonej ze spektrometrią mas (GC-MS). Do oznaczenia związków organicznych w próbkach naczyń zastosowano chromatograf gazowy (6890N Network GC System, Agilent Technologies) sprzężony ze spektrometrem mas (5973 Network Mass Selective Detector, Agilent Technologies).

Charakterystyka próbek²

Do badań wybrano zestaw ośmiu naczyń różnych morfologicznie, a więc sugerujących odmienną użytkowość. Były to pojemniki towarzyszące popielnicom w grobach z okresu halsztackiego (nr 4270, 4384 i 8899, Ryc. 1). Każde z nich cechowało się inną technologią, potraktowaniem powierzchni, zdobnictwem, a także lokalizacją w grobie. Należy pamiętać, że specyfika naczyń grobowych może być odmienna niż egzemplarzy znalezionych na osadach. Najprawdopodobniej nie przygotowywano w nich posiłków, a tylko deponowano gotowe potrawy lub produkty. Ich „stołowy” charakter, poza garnkami, podkreślany jest często przez sposób wykonania, ornamentykę.

1 Badania zostały sfinansowane przez Narodowe Centrum Nauki w ramach projektu „Przemiany w obrządku grzebalnym w epoce brązu i wczesnej epoce żelaza jako wyraz zmian społeczno-kulturowych w południowo-zachodniej Polsce”, kierownik projektu: prof. dr hab. Bogusław Gediga (nr UMO-2014/15/B/HS3/02463).

2 Próbkę nr 1, 7, 8, 9 i 13 dotyczyły naczyń z grobu nr 2834 datowanego na III okres epoki brązu.

Próbka 2. Domasław, stan. 10/11/12, nr ob. 4384, fr. naczynia 7

Próbka 3. Domasław, stan. 10/11/12, nr ob. 8899, fr. naczynia 11

Próbka 4. Domasław, stan. 10/11/12, nr ob. 4384, fr. naczynia 13

Próbka 5. Domasław, stan. 10/11/12, nr ob. 4384, fr. naczynia 26

Próbka 6. Domasław, stan. 10/11/12, nr ob. 4384, fr. naczynia 2

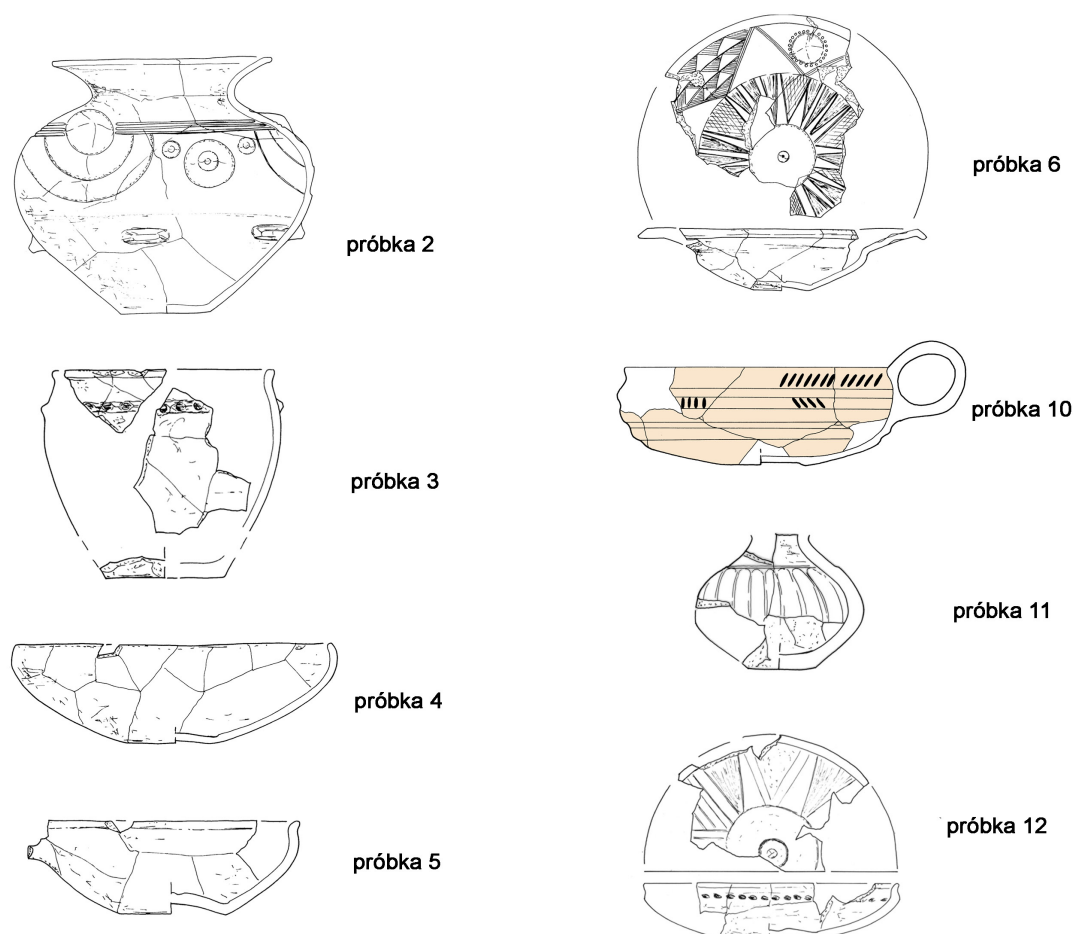
Próbka 10. Domasław, stan. 10/11/12, nr ob. 4384, fr. naczynia 22

Próbka 11. Domasław, stan. 10/11/12, nr ob. 4270, fr. naczynia 5

Próbka 12. Domasław, stan. 10/11/12, nr ob. 4270, fr. naczynia 40

Przygotowanie próbek naczyń do analizy

Odważoną próbkę materiału (około 5 g) poddawano ekstrakcji w mieszaninie dichlorometanu i metanolu (2:1 v/v) przez 4 godziny w aparacie Soxhleta. Wyekstrahowaną frakcją lipidową suszono w wyparce rotacyjnej. Uzyskaną pozostałość rozpuszczono w 2 ml heksanu. Następnie 0,5 ml roztworu przeniesiono do fiolki szklanej i odparowano pod strumieniem azotu. Anality wchodzące w skład frakcji lipidowej poddano procesowi derywatywacji (przekształcenie w lotne pochodne) przez dodanie 100 µl mieszaniny N,O-bis(trimetylosililo)trifluoroacetamidu i trimetylochlorosilanu (100:1 v/v). Proces prowadzono przez 30 minut w temperaturze 75°C. Fiolki uzupełniono 300 µl heksanu i poddano analizie GC-MS.



Ryc. 1. Wybrane do badań rodzaje naczyń zdeponowanych w grobach z okresu halszackiego na cmentarzysku Domasław 10/11/12 (rys. K. Świątek, oprac. A. Józefowska)

Fig. 1. Types of vessels deposited in graves from the Hallstatt period from the Domasław cemetery 10/11/12, selected for analyses (drawn by K. Świątek, made by A. Józefowska)

Parametry pracy aparatury

Analizę chromatograficzną próbek przeprowadzono z wykorzystaniem chromatografu gazowego (6890N Network GC System, Agilent Technologies) sprzężonego ze spektrometrem mas (5973 Network Mass Selective Detector, Agilent Technologies) i wyposażonego w kolumnę HP-5MS (dł. 30 m, śr. 0,25 mm, gr. filmu 0,25 μ m). Przepływ gazu nośnego (helu) ustalono na 0,9 mL/min. Próbkę o objętości 1 μ L dozowano w temperaturze 250°C. Analizę prowadzono w gradiencie temperaturowym z temperaturą początkową 60°C (0 min), narostem temperatury wynoszącym 12°C/min oraz temperaturą końcową równą 300°C (0 min). Całkowity czas analizy wyniósł 20 minut. Spektrometr mas pracował w trybie jonizacji strumieniem elektronów. Temperatura źródła jonów i detektora wynosiła odpowiednio 230°C i 150°C. W czasie analizy zastosowano 4-minutowe opóźnienie

rozpuszczalnika. Analizator skanował w zakresie stosunku masy do ładunku (m/z) od 50 do 550.

Oznaczanie kwasów tłuszczowych w naczyniach ceramicznych

Analiza jakościowa kwasów tłuszczowych i biomarkerów archeologicznych została przeprowadzona na podstawie biblioteki widm masowych Wiley'a i NIST08. Wszystkie kwasy oznaczono w postaci pochodnych trimetylosililowych. Analiza ilościowa kwasów tłuszczowych została przeprowadzona metodą normalizacji wewnętrznej.

Wyniki badań

Zawartości procentowe kwasów tłuszczowych w ośmiu próbkach naczyń ceramicznych pochodzących z grobów z Domasławia przedstawiono w Tabeli 1.

Tabela 1. Zawartości procentowe kwasów tłuszczowych w próbkach pochodzących z miejscowości Domasław, stan. 10/11/12**Table 1.** Percentages of fatty acids in the samples from Domasław, Site No. 10/11/12

Nazwa systematyczna kwasu	Nazwa zwyczajowa	Skrót	Numer próbki							
			2	3	4	5	6	10	11	12
heksanowy	kapronowy	C6:0	0,03	0,01	0,04	0,06	0,05	0,01	0,03	0,01
heptanowy	enantowy	C7:0	0,04	0,01	0,02	0,04	0,02		0,04	0,01
oktanowy	kaprylowy	C8:0	0,08	0,03	0,06	0,11	0,05	0,08	0,07	0,03
nonanowy	pelargonowy	C9:0	0,11	0,07	0,09	0,15	0,06	0,28	0,14	0,07
dekanowy	kaprynowy	C10:0	0,10	0,06	0,06	0,09	0,04	0,47	0,06	0,05
undekanowy	-	C11:0								0,03
dodekanowy	laurynowy	C12:0	0,74	0,56	0,41	0,91	0,22	0,69	0,44	0,64
tetradekanowy	mirystynowy	C14:0	2,40	1,94	1,89	1,05	0,92	1,63		2,00
pentadekanowy	-	C15:0	0,34	0,29	0,22	0,33	0,16	0,48	0,26	0,38
heksadekanowy	palmitynowy	C16:0	7,63	7,06	6,26	6,53	2,51	8,85	5,55	6,88
heptadekanowy	margarynowy	C17:0	0,80	0,68	0,49	0,58		0,85	0,52	0,62
cis-9,12-oktadekadienowy	linolowy	C18:2	0,63	0,77	0,48	1,06		0,95	0,39	0,66
cis-9-oktadekenowy	oleinowy	C18:1	1,12	1,01	0,91	1,10	1,04	1,39	0,69	1,00
oktadekanowy	stearynowy	C18:0	10,18	9,71	8,89	8,98	4,26	12,43	8,03	9,76
nonadekanowy	-	C19:0		0,32	0,25			0,34		
ikozanowy	arachidowy	C20:0	1,65	0,86	0,70	0,46	0,28	1,30	0,43	0,76
dokozanowy	behenowy	C22:0	0,66	0,32	0,24	0,11		0,39	0,21	0,25

Obliczenia proporcji kwasów tłuszczowych

Zawartości procentowe kwasów organicznych nie są bezpośrednio wykorzystywane do wnioskowania o źródle pozostałości organicznych, gdyż obecność pojedynczych kwasów nie jest charakterystyczna dla danego typu pożywienia (pochodzenia roślinnego bądź zwierzęcego). Przedstawione wnioski bazują na proporcjach kwasów tłuszczowych zaproponowanych przez amerykańskiego archeologa prof. J.W. Eerkensa z Uniwersytetu

w Kalifornii (2005). Naukowiec ten, po przeprowadzeniu szeregu różnych analiz naczyń ceramicznych, świeżego i rozłożonego pożywienia, a także na podstawie informacji uzyskanych tradycyjnymi metodami archeologicznymi, stwierdził, że proporcje wybranych kwasów tłuszczowych znacznie się różnią w zależności od pochodzenia roślinnego bądź zwierzęcego. Stosunek odpowiednich kwasów tłuszczowych zostały wyliczone według sposobu zaproponowanego właśnie przez profesora Eerkensa (Tabela 2).

Tabela 2. Proporcje kwasów tłuszczowych stosowane do rozróżnienia żywności**Table 2.** Proportions of fatty acids used to distinguish foods

Proporcja	Stan	Ssaki	Ryby	Korzenie i bulwy	Warzywa	Nasiona i orzechy	Jagody
(C15:0+C17:0)/C18:0	świeże	<0,2	0,2-0,5	>0,2	0,1-1,0	<0,6	<0,2
	rozłożone	<0,2	0,2-0,5	>0,2	0,1-1,0	<0,6	<0,2
C16:1/C18:1	świeże	0,02-0,2	0,2-0,5	0,05-0,7	>0,7	<0,3	<0,08
	rozłożone	0,08-0,8	0,8-2,0	0,2-2,8	>2,8	<1,2	<0,32
C16:0/C18:0	świeże	<3,5	4-6	3-12	5-12	0-9	2-6
	rozłożone	<7	8-12	6-24	10-24	0-18	4-12
C12:0/C14:0	świeże	<0,15	<0,15	>0,15	>0,05	>0,15	>0,15
	rozłożone	<0,15	<0,15	>0,15	>0,05	>0,15	>0,15

Warto także zwrócić uwagę na proporcję kwasów C16:0/C18:0. W celu ułatwienia interpretacji uzyskanych wyników z analizy frakcji lipidowej angielscy badacze zaproponowali tę relację jako kryterium odróżniania pozostałości pochodzenia zwierzęcego od roślinnego. Wyniki oparte na proporcjach tylko tych dwóch kwasów (C16:0 i C18:0) budzą wątpliwości, tym bardziej, że są one wszechobecne, występujące zarówno w produktach roślinnych, jak i zwierzęcych. Wielu autorów sugeruje, że ich znaczne ilości mogą być spowodowane procesami przekształcenia kwasów nienasyconych do nasyconych, np. degradacją C18:1 do C18:0. W literaturze opisane są przypadki stosowane w odróżnieniu pozostałości tłuszczu przeżuwaczy od tłuszczu zwierząt monogastrycznych oraz produktów mlecznych na podstawie zawartości kwasów tłuszczowych. Istotne w tym względzie okazuje się występowanie w próbkach kwasów C15:0 i C17:0 o rozgałęzionych łańcuchach. M. Regert (2011) pokazuje, że pozostałości tłuszczu zapasowych przeżuwaczy (oraz produktów mlecznych) powinny zawierać znacznie większą ilość kwasu C18:0 niż C16:0 oraz niewielki udział kwasów C15:0 i C17:0 (o prostych i rozgałęzionych łańcuchach), a także mieszaninę izomerów kwasu C18:1 (z wiązaniem podwójnym przy 9, 11, 13, 14, 15 i 16 węgla). Z kolei pozostałości mięsa zwierząt monogastrycznych (np. wieprzowiny) mają w składzie więcej kwasu C16:0 niż C18:0, nie powinny zawierać kwasów tłuszczowych o nieparzystej liczbie atomów węgla w łańcuchu oraz może znajdować się w nich tylko jeden rodzaj kwasu nienasyconego C18:1 – kwas oleinowy (cis-9-oktadekenowy).

Omówienie wyników badań

W analizowanych próbkach oznaczono kwasy tłuszczowe o długości łańcucha węglowego od 6 do 22. Wśród nich dominują kwasy nasycone: stearynowy (C18:0), palmitynowy (C16:0) oraz mirystynowy (C14:0), który jest nieobecny tylko w próbce 11. Kwasy nienasycone reprezentuje kwas oleinowy (C18:1) oraz kwas linolowy (C18:2), który nie występuje w próbce naczynia 6. Ponadto w badanych próbkach brak kwasu linolenowego (C18:3), co nie jest dużym zaskoczeniem, ponieważ kwas ten bardzo rzadko występuje w próbkach archeologicznych. Najbardziej ubogą pod względem oznaczonych kwasów tłuszczowych okazała się próbka 6.

Interpretując występowanie kwasów można zakładać, że zawartość wszystkich naczyni, z których pobrano próbki miała zasadniczo charakter roślinny (nasiona i orzechy oraz jagody), choć proporcje kwasów tłuszczowych obliczone dla próbki 11 mogą wskazywać na obecność w naczyniu mięsa ssaków lądowych (Tabela 3).

Biorąc pod uwagę wyniki dotyczące obecności kwasów tłuszczowych, których proporcje są charakterystyczne dla pożywienia zachowanego w naczyniach ceramicznych, trudno byłoby stwierdzić jednoznacznie, z czym próbka mogła mieć kontakt. Dlatego w celu uzupełnienia wiedzy poszukuje się w próbkach archeologicznych związków określanych mianem biomarkerów archeologicznych (Kałużna-Czaplińska *et al.* 2016).

Tabela 3. Obliczone proporcje kwasów tłuszczowych w próbkach pochodzących z miejscowości Domasław, stan. 10/11/12 w oparciu o kryteria zaproponowane przez J.W. Eerkensa (2005)

Table 3. Calculated proportions of fatty acids in the samples from Domasław, Site No. 10/11/12, based on the criteria proposed by J.W. Eerkens (2005)

Proporcja	Numer próbki							
	2	3	4	5	6	10	11	12
(C15:0+C17:0)/C18:0	0,11	0,10	0,08	0,10	0,04	0,11	0,10	0,10
C16:1/C18:1	-	-	-	-	-	-	-	-
C16:0/C18:0	0,75	0,73	0,70	0,73	0,59	0,71	0,69	0,70
C12:0/C14:0	0,31	0,29	0,22	0,87	0,24	0,42	-	0,32

Związki charakterystyczne oznaczone w analizowanych próbkach

Badania organicznych pozostałości wymagają dużej ostrożności w interpretacji. Opierają się one głównie na analizie zachowanych kwasów tłuszczowych (opisanych wcześniej) oraz biomarkerów (składników specyficznych). Pojęcie *biomarker archeologiczny* możemy zdefiniować jako substancję występującą w badanych pozostałościach organicznych, zachowanych w naczyniach ceramicznych, która dostarcza informacji o działalności człowieka w przeszłości i nawiązuje do tradycji. Biomarkery służą do jednoznacznego określenia źródła lub rodzajów źródeł pochodzenia pokarmów przechowywanych i/lub przetwarzanych w badanej ceramice. Na przykład oznaczony cholesterol może stanowić dowód na obecność mięsa, natomiast sitosterol (ogólnie fitosterole) jest biomarkerem wskazującym na występowanie pokarmów roślinnych.

Markerami roślinnymi, wykrywalnymi metodami chromatograficznymi, są także takie grupy związków jak: alkaloidy, sterole oraz saponiny. Natomiast markerami zwierzęcymi są sterole oraz kwasy żółciowe. Alkaloidy są to związki zawierające w cząsteczce azot, charakteryzujące się odczynem zasadowym, występujące w różnych częściach roślin, często toksyczne. Dzięki wysokiej odporności alkaloidów na temperaturę obróbka termiczna podczas gotowania roślin nie wpływa na ich zawartość. Saponiny są to związki powierzchniowo czynne występujące naturalnie w roślinach. Ze względu na budowę dzielimy je na sterydowe i triterpenowe. Są obecne w takich roślinach jak szpinak, soja czy zioła. Sterole z kolei są alkoholami alicyklicznymi, zaliczanymi do grupy steroidów. Ze względu na doskonałe właściwości lipofilowe występują zarówno w tłuszczach zwierzęcych, jak i roślinnych w stanie wolnym bądź w postaci wosków. Najbardziej powszechnym steroidem zwierzęcym jest cholesterol, natomiast często występującymi sterolami roślinnymi są sitosterole takie jak stigmasterol czy β -sitosterol. W środowisku silnie kwaśnym ulegają dehydratacji do eterów steroidowych i węglowodorów.

W Tabeli 4 przedstawiono związki charakterystyczne dla profilu lipidowego, które najczęściej występowały w badanych próbkach. Ponieważ jest duże zróżnicowanie w potencjalnych markerach występujących w próbkach, wszystkie te związki zostaną kolejno scharakteryzowane na podstawie dostępnej literatury.

- Kwas mlekowy (w postaci pochodnej trimetylosililowej) będący hydrokyskwasem występującym powszechnie w organizmach żywych. Powstaje w skwaśniałym mleku poprzez fermentację mlekową (wynik fermentacji cukrów – laktozy w mleku czy fruktozy w owocach). Powstaje także w mięśniach szkieletowych ssaków przy wysokim wysiłku fizycznym (Chmiel 1991, 75). Związek ten jest obecny tylko w próbce 12.
- Kwas benzoesowy i 17-pentatriakontan, które uznawane są nawet współcześnie jako składniki propolisu (Erturk *et al.* 2016; Çelemlı 2015). Kwas benzoesowy jest obecny tylko w próbkach: 2, 3, 4, 6, 11, natomiast 17-pentatriakontan występuje w próbkach: 2, 4, 5, 6, 10-12.
- 1,2-Dipalmitynian glicerolu jest to gliceryd składający się z dwóch kwasów (kwasu palmitynowego) i cząsteczki glicerolu. Ugrupowania tego kwasu pochodzą z olejów rybnych, tłuszczu mlecznych, olejów roślinnych i tłuszczu zwierzęcych. Występuje często w produktach piekarskich, napojach, gumie oraz margarynie (*Human Metabolome Database, Record Name: DG(16:0/!6:0/0:0)* <http://hmdb.ca/metabolites/hmdb07098>). Związek ten jest obecny w próbce 10.
- 1-Monolinoloiloglicerol (w postaci pochodnej trimetylosililowej) jest to gliceryd składający się z jednego łańcucha kwasu tłuszczowego (kwasu linolowego) i glicerolu. Jest on produktem końcowym trawienia jelit u zwierząt. 1-Monolinoloiloglicerol jest steroidem, związkiem, który jest charakterystyczny m.in. dla roślin morskich, roślin przybrzeżnych (Sheela, Uthayakumari 2013). Związek ten jest obecny prawie we wszystkich próbkach, z wyjątkiem 10.
- 1-Heptatriakontanol – jest to długołańcuchowy alkohol, wykazuje właściwości antyoksydacyjne, antynowotworowe, przeciwzapalne i wpływa na hormony płciowe. Występuje w różnych woskach, np. w pszczelim lub roślinnych – olej jojoba (Mohammed *et al.* 2016). Związek ten jest obecny w próbkach: 2 i 3.
- 3-Hydroksyspirost-8-en-11-on – składnik surowego soku z trzciny cukrowej, występuje także w innych roślinach cukrowych. Wykazuje właściwości antynowotworowe (Bharathidasan *et al.* 2017). Związek ten jest obecny w próbce 2.

- 3-Acetoksy-7,8-epoksyolanostan-11-ol – związek chemiczny należący do grupy alkoholi rozgałęzionych powstałych na bazie cholesterolu, występuje w wielu roślinach (szczególnie w liściach, łodygach i korzeniach). Ma właściwości przeciwzapalne i antybakteryjne (Al-Shammari *et al.* 2012; Chacha *et al.* 2014). Związek ten jest obecny w próbkach 2, 3, 5, 12.
- 4-Etylokoprostanol – pochodna beta-sitosterolu powstająca w przewodzie pokarmowym roślinożernych zwierząt. Występuje w olejach roślinnych, orzechach czy też w awokado (*Nutrition data: Foods highest in beta-sitosterol per 200 calorie serving, Conde Nast USDA National Nutrient Database, ver SR-21, 2014*). Związek ten jest obecny w próbce 4.

Tabela 4. Związki charakterystyczne dla profilu lipidowego, które najczęściej występowały w badanych próbkach

Table 4. Compounds characteristic of lipid profile, which were most frequently found in the tested samples

Nazwa związku	Numer próbki							
	2	3	4	5	6	10	11	12
Kwas mlekowy*	-	-	-	-	-	-	-	+
17-Pentatriakonten	+	-	+	+	+	+	+	+
Kwas benzoesowy	+	+	+	-	+	-	+	-
1,2-Dipalmitynian glicerolu	-	-	-	-	-	+	-	-
1-Monolinoloiloglicerol*	+	+	+	+	+	-	+	+
1-Heptatriakontanol	+	+	-	-	-	-	-	-
3-Hydroksyspirost-8-en-11-on	+	-	-	-	-	-	-	-
3-Acetoksy-7,8-epoksyolanostan-11-ol	+	+	-	+	-	-	-	+
24-Etylokoprostanol	-	-	+	-	-	-	-	-

*oznaczony w postaci pochodnej trimetylosililowej

„+” – związek występujący w próbce; „-” – związek niewystępujący w próbce

Podsumowanie

Na podstawie przeprowadzonych analiz chromatograficznych (oznaczanie proporcji kwasów tłuszczowych) oraz identyfikacji potencjalnych biomarkerów występujących w próbkach i zebranych informacji z literatury można stwierdzić, że badane naczynia z grobów halsztackich nr 4270, 4384 i 8899 miały kontakt z surowcami pochodzenia roślinnego (nasiona, orzechy, roślinność występująca na danym terenie, prawdopodobnie trawy i pospolite krzewy). W pojemnikach mógł być także воск pszczeli i roślinny (m.in. 1-heptatriakontanol).

Próbki 2, 3, 5, 12 (z wazy, garnka, czerpaka i małej misy) zawierały związek chemiczny należący do grupy alkoholi rozgałęzionych powstałych na bazie cholesterolu, który zawiera wiele roślin, szczególnie w liściach, łodygach i korzeniach (3-Acetoksy-7,8-epoksyolanostan-11-ol). Waza,

garnek (próbki 2, 3) zawierały 1-heptatriakontanol – długołańcuchowy alkohol, występujący w różnych woskach, np. w pszczelim lub roślinnych.

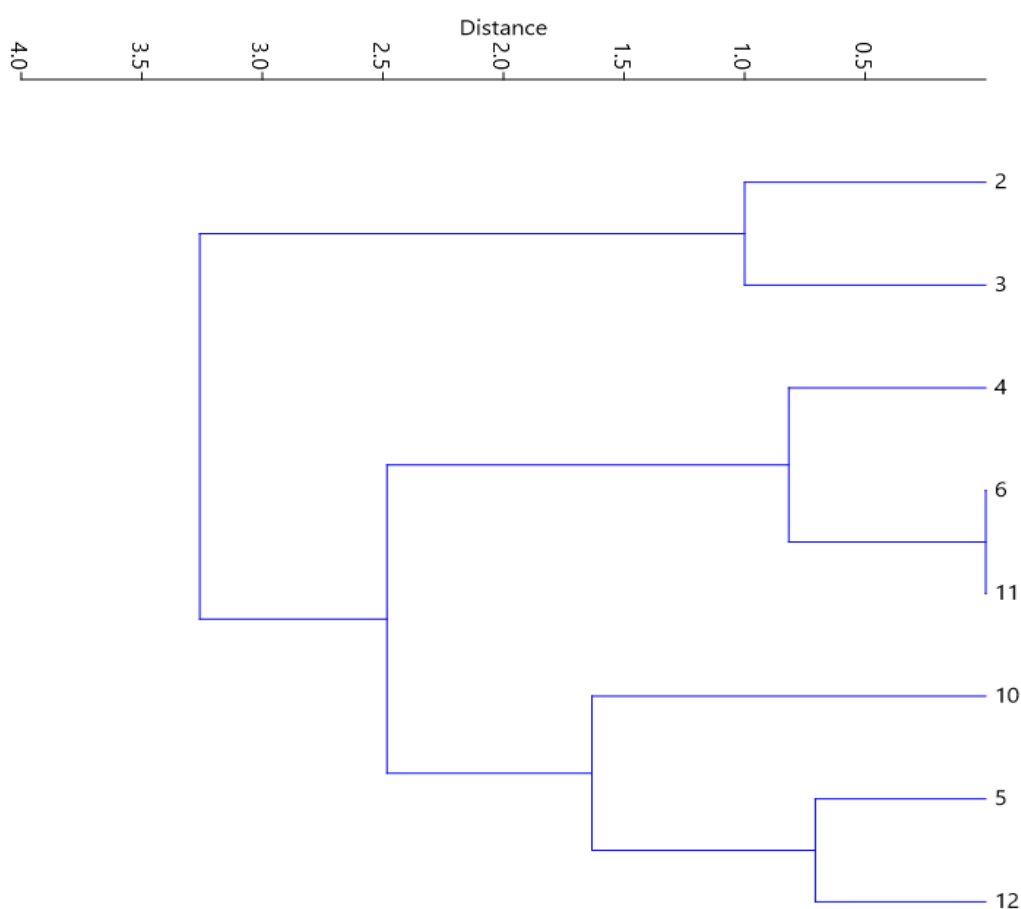
Duża waza z grobu nr 4384 (próbka 2) mogła zawierać nalewkę z kitu lub miodu pszczelego (kwas benzoesowy i 17-Pentatriakonten). W próbce z tego naczynia badania wykazały również składnik występujący w roślinach cukrowych (3-Hydroksyspirost-8-en-11-on). Także badanie wykonane dla garnka z grobu nr 8899 (próbka 3) oraz czerpaka (próbka 5) i talerzowatej misy (próbka 6) z grobu nr 4384 wykazały składniki propolisu i alkoholi roślinnych. Próbka z talerzowatej misy okazała się jednocześnie najbardziej uboga pod względem oznaczonych kwasów tłuszczowych. W czerpaku mógł także znaleźć się propofol, związek z grupy fenoli, wykorzystywany w medycynie jako lek usypiający, działający szybko, krótkotrwanie.

Wśród pozostałych naczyń halsztackich badano także inny czerpak o powierzchni malowanej

(próbka 10), który oprócz składników propolisu zawierał oleje/tłuszcze występujące często w produktach piekarskich (1,2-dipalmitynian glicerolu). Miniaturowe naczynie wazowate z grobu nr 4270 (próbka 11) miało kontakt z produktami pochodzenia roślinnego i choć nie stwierdzono cholesterolu, najprawdopodobniej także z produktami pochodzenia zwierzęcego, na co wskazują obliczone proporcje kwasów tłuszczowych. Mała misa o grafitowanej powierzchni z grobu nr 4270 (próbka 12) zawierała pochodną siliową kwasu mlekowego, która powstaje poprzez fermentację laktozy w mleku czy fruktozy w owocach. W większej misie z grobu nr 4384 (próbka 4) odkryto natomiast pochodną beta-sitosterolu po-

wstającą w przewodzie pokarmowym roślinożernych zwierząt (24-etylokoprostanol), występującą w olejach roślinnych, orzechach.

Dodatkowo wykonana została analiza podobieństwa między próbkami pod względem obecności biomarkerów za pomocą analizy wiązkowej. Analizę przeprowadzono metodą Warda w pakiecie PAST 4.01 (Hammer *et al.* 2001). Widoczne na rycinie 2 wyniki analizy pokazują, że próbki można pogrupować w trzy dobrze rozdzielone skupiska. Najbardziej podobne do siebie okazały się być próbki 6 i 11, które, jak można zaobserwować w tabeli 4, zawierały dokładnie te same biomarkery. Wysokie podobieństwo wykazały także próbki 5 i 12 oraz w nieco mniejszym stopniu próbki 2 i 3.



Ryc. 2. Analiza wiązkowa metodą Warda pod względem obecności biomarkerów w badanych próbkach
Fig. 2. Beam analysis with the use of the Ward method for the presence of biomarkers in the tested samples

Specyfika naczyń pogrzebowych, w których może poza garnkami, z pewnością nie przygotowywano posiłków, ogranicza pozyskiwanie precyzyjnych wyników badań. Jednak wykonane analizy potwierdzają, że część naczyń mogła służyć jako pojemniki na napoje alkoholowe, a inne do przechowywania różnych potraw. W badanych grobach pojawiły się zestawy odzwierciedlające zwyczajnie biesiadne znane z kręgu kultur halsztackich (Gediga, Józefowska 2019, 197–198). Bogato zdobione, duże wazy o stożkowatych szyjkach pojawiły się w okresie halsztackim i podobnie jak krater na śródziemnomorskim sympozjone, odgrywały kluczową rolę w ceremonii picia alkoholu, służąc jako pojemniki na sfermentowaną ciecz, wodę i inne składniki, które po wymieszaniu były dystrybuowane gościom w mniejszych naczyniach (Nebelsick 2016, 22–23). Czerpakami można było nabierać płyny bezpośrednio i rozlewać do mis i czarek do picia (Mierzwiński 2012; Nebelsick 2016). Garnki, najczęściej jedyne naczynia gospodarcze umieszczane w grobach, mogły być wybierane jako pojemniki do przechowywania lub przygotowywania napojów. Były to jedyne nakrywane, poza popielnicami, a więc z chronioną zawartością naczynia w pochówkach. W garnkach ceramicznych, podobnie jak w brązowych wiadrach deponowanych w grobach od okresu późnej epoki brązu, mogła znajdować się nierozcieńczona substancja sfermentowana, która stanowiła podstawę zmieszanego później z wodą napoju alkoholowego (Nebelsick 2016, 23). Duży kociołek z brązu znaleziony w grobie w Hochdorf zawierał osady z dużą ilością pyłku i miodu w ilości wystarczającej do produkcji miodu pitnego alkoholowego, ale zidentyfikowano również wosk pszczeli, który mógł służyć także do balsamowania ciała (Körber-Grohne 1985, 147; Kull 1997, 277). Wykonane badania naczyń domasławskich świadczą o tym, że także na terenach Polski południowo-zachodniej pochówki zawierały przemysłane komplety biesiadne do libacji i materialnych ofiar, zawierające naczynia do jedzenia, czerpania napojów i ich spożywania, przechowywania, obmywania (Józefowska 2018; Gediga, Józefowska 2019).

Literatura

- Al-Shammari L.A., Hassan W.H., Al-Youssef H.M. 2012. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil and lipid content of *Carduus pycnocephalus*. L. growing in Saudi Arabia, *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 4(2), 1281–1287.
- Bharathidasan R., Rajendran P., Sureshkumar K. 2017. GC-MS Analysis of Phyto-Components in Raw and Treated Sugarcane Juice, *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, Volume 6, Nr 7, 51–61.
- Çelemlı Ö.G. 2015. Chemical Classification of Propolis Samples Collected from Different Regions of Turkey in Geographical Region Base, *Hacettepe Journal of Biology and Chemistry*, 43 (1), 49–57.
- Chacha M., Kidukuli A., Shahada F., Zekeya N. 2014. Analysis of phytochemical composition of *Bersama abyssinica* by gas chromatography – mass spectrometry, *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 3(4), 246–252.
- Chmiel A. 1991. *Biotechnologia. Podstawy mikrobiologiczne i biochemiczne*. Warszawa, Wydawnictwo Naukowe PWN.
- Eerkens J.W. 2005. GC-MS analysis and fatty acid ratios of archaeological potsherds from the Western Great Basin of North America, *Archaeometry* 47, 83–102.
- Erturk O., Cil E., Yoloğlu N., Yavuz C. 2016. *An in vitro study on antimicrobial and antioxidant activity of propolis from Rize Province of Turkey*. *Mellifera*, 16(1), 4–18.
- Gediga B., Józefowska A. 2019. *Przemiany w obrzędku grzebalnym w epoce brązu i wczesnej epoce żelaza w świetle analizy źródeł z cmentarzyska w Domasławiu, pow. wrocławski i nekropolii bliskiego regionu. Problemy zmian społeczno-kulturowych*, Instytut Archeologii i Etnologii PAN, Wrocław.
- Hammer, Ø., Harper, D.A.T., Ryan, P.D. 2001. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica* 4(1): 9pp. http://palaeo-electronica.org/2001_1/past/issue1_01.htm
- Human Metabolome Database, Record Name: DG(16:0/!6:0/0:0) <http://hmdb.ca/metabolites/hmdb07098>
- Józefowska A. 2018. Halsztacki model funeralny grobów komorowych z Domasławia, Śląskie Sprawozdania Archeologiczne 60/1, 183–208; DOI: 10.23734/ssa.2018.60.1.183.208.
- Kałużna-Czaplińska, J., Rosiak A., Kwapińska M., Kwapiński W. 2016. Different analytical procedures for the study of organic residues in archaeological ceramic samples with the use of Gas Chromatography

- mass Spectrometry, *Critical Reviews in Analytical Chemistry* 46 (1), 67–81.
- Körber-Grohne U. 1985. Die biologischen Reste aus dem hallstattzeitlichen Fürstengrab von Hochdorf, Gemeinde Eberdingen (Kreis Ludwigsburg). (W:) H. R. Küster, U. Körber-Grohne (eds.) *Hochdorf I, Forschungen und Berichte zur Vor- und Frühgeschichte in Baden-Württemberg* 19. Stuttgart: Theiss, 85–265.
- Kull B. 1997. Tod und Apotheose: zur Ikonographie in Grab und Kunst der jüngeren Eisenzeit an der unteren Donau und ihrer Bedeutung für die Interpretation von "Prunkgräbern", *Berichte der Römisch-Germanischen Kommission* 78, 197–466.
- Mierzwiński A. 2012. *Biesiady w rytuale pogrzebowym nadodrzańskiej strefy pól popielnicowych*. Wrocław: Instytut Archeologii i Etnologii Polskiej Akademii Nauk.
- Mohammed Y.H., Ghaidaa J.M., Imad H.H. 2016. Analysis of bioactive chemical compounds of *Nigella sativa* using gas chromatography-mass spectrometry, *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy* Vol. 8(2), 8–24, February DOI: 10.5897/JPP2015.0364.
- Nebelsick L. D. 2016. *Drinking against Death. Studies on the materiality and iconography of ritual, sacrifice and transcendence in later prehistoric Europe*. Warszawa: Wydawnictwo Naukowe UKSW.
- Nutrition data: Foods highest in beta-sitosterol per 200-Calorie serving, Conde Nast USDA National Nutrient Database, ver SR-21, 2014.
- Regert M. 2011. Analytical strategies for discriminating archaeological fatty substances from animal origin, *Mass Spectrometry Reviews* 30, 177–220
- Sheela D., Uthayakumari F. 2013. GC-MS analysis of bioactive constituents from coastal sand dune taxon - *Sesuvium portulacastrum* (L.), *Bioscience Discovery* 4(1), 47–53.

Determination of organic compounds in samples of vessels from the Hallstatt graves from Domasław No. 10/11/12, Kobierzyce Commune

Summary

Clay vessels have a characteristic porous structure which allows them to absorb particles of organic compounds during use. The pores in the walls of the vessel also serve as a specific trap, which does not allow the release of the particles, even under the influence of long-term environmental factors. The best preserved components of organic residues are lipids, and in particular fatty acids, which are their components. Chromatographic analyses were carried out on fragments of 8 vessels from grave goods from the Early Iron Age cemetery in Domasław, Kobierzyce Commune. Fatty acids were determined and proportions of selected fatty acids, which are considered to be specific for a given type of residue source, were calculated. Based on the interpretation of the calculated acid proportions and the presence of specific indicators called archaeological biomarkers, it can be concluded that the samples are essentially of plant origin (seeds, nuts and berries). However, for one sample, the results also indicate the presence of meat of land mammals. Statistical analysis of the results was performed using PAST statistical package.

