

МЕТОД АНАЛИЗА ДРЕВНЕГО КРАХМАЛА В ВОПРОСАХ И ОТВЕТАХ

И.Е. Пантюхина

В статье рассматриваются основные проблемные аспекты применения метода анализа древнего крахмала. Метод, сравнительно недавно начавший распространяться в зарубежной археологии как одно из средств реконструкции систем жизнеобеспечения древнего человека, остаётся недостаточно освоенным в отечественной науке. Одна из причин этого — слабая информированность археологов о базовых процессах «жизни» крахмала и основах метода. Вопросы, затронутые в статье, являются наиболее часто задаваемыми коллегами в ходе конференций и дискуссий.

Крахмал — это природное вещество, которое включено в круговорот углерода наряду с другими источниками растительной биомассы. Его сложная полимерная молекула формируется на основе глюкозы — одного из самых распространённых источников энергии в живых организмах. Поэтому исследуемое соединение является энергетическим резервом как короткого, так и длительного хранения. Структурные особенности этого вещества обусловлены генетикой растений, и это позволяет разделять крахмал различных так-

сонов, используя методы оптической микроскопии.

В статье рассмотрены факторы, влияющие на сохранность крахмала в различных археологических контекстах/условиях и временных масштабах. Кратко описаны базовые характеристики крахмала, на которых основывается идентификация растительных таксонов. Первостепенное значение для реконструкций и интерпретаций имеет надёжность и достоверность источников. В работе рассмотрено главное сомнение скептиков: действительно ли древний крахмал связан с деятельностью человека? В этом же ключе затронута проблема загрязнения образцов современными крахмалами и обозначены принципы профилактики и контроля. Специфика крахмала позволяет собирать образцы для будущих исследований. Предложены доступные рекомендации по отбору и хранению археологических образцов для анализа древнего крахмала.

Ключевые слова: археология, метод анализа древнего крахмала, характеристики крахмала, сохранность археологического крахмала, факторы разрушения крахмала, отбор образцов на крахмал.

Методы естественных наук становятся неотъемлемой частью археологии, открывая новые области исследования и повышая надёжность интерпретаций. Анализ биологических археологических остатков и микроостатков — очень широкое направление, которое затрагивает как исследование самих артефактов, так и извлечение различными способами материалов и/или остатков веществ, свидетельствующих о деятельности

Пантюхина Ирина Евгеньевна, младший научный сотрудник сектора первобытной археологии ИИАЭ ДВО РАН, Владивосток, Россия.

Pantukhina Irina Evgen'evna, junior researcher, Department of Primitive Archaeology, Institute of History, Archaeology and Ethnology of the Peoples of the Far East, FEB RAS, Vladivostok, Russia.

E-mail: pantukhina2000@mail.ru

человека, из почв. В данной работе мы предлагаем рассмотреть основные вопросы, связанные с методом анализа древнего крахмала (ancient starch research method), так как в русскоязычной литературе эта область остаётся неосвещённой, а результативные исследования уже проводятся (Пантюхина и др. 2018). Все затронутые в работе вопросы возникали в ходе общения и обсуждения метода с коллегами, поэтому полезно их рассмотреть подробно.

Крахмал входит относится к археоботаническим источникам наряду с макроботаническими остатками, фитолитами, пыльцой, целлюлозой, лигнином, липидами, изотопами и отдельными специфическими органическими кислотами. Идентификация этих объектов возможна химическими методами, методами световой и сканирующей микроскопии. Среди всего этого набора наиболее доступной для археологов является световая микроскопия, она же даёт и самую точную идентификацию целого ряда источников: макроботанических, пыльцы, фитоцитов и крахмала, — так как позволяет оперировать большим набором характеристик этих объектов и проводить рутинные и массовые исследования образцов с доступной пробоподготовкой.

ЧТО ТАКОЕ КРАХМАЛ?

Крахмал — сложный углевод (полисахарид), который является основным питательным резервом у высших растений, хотя он встречается у грибов, водорослей и животных в форме гликогена. В ходе многоступенчатых химических реакций крахмал/гликоген расщепляется на простые сахара, которые служат источником энергии в организме.

Крахмал состоит из двух полимеров глюкозы: амилопектина и амилозы — и нерастворим в воде. Молекулы глюкозы формируются в две различные цепочки. Линейная (амилоза) и сильно разветвлённая (амилопектин) послойно упакованы в грануле вокруг центральной точки роста — хилума (hilum). Слои упорядоченного и аморфного состава чередуются между собой, формируя полукристаллическую структуру крахмала (рис. 1: а). С этим связано свойство двулучепреломления в поляризованном свете. Гранулы крахмала демонстрируют поляризационный крест — пересекающиеся тёмные линии на фоне ярко светящейся гранулы (рис. 1: в). Размер крахмального зерна запасаемого крахмала может колебаться от 1 до 100 мк, форма также может быть разнообразной. Для нас имеет значение целый комплекс характеристик гранул крахмала, которые необходимо учитывать для надёжной идентификации (рис. 1: б—г).

У растений существует две формы крахмала, которые делятся по своей функции и расположению на запасный и временный (транзитный). Последний имеет вид мелких гранул и формируется в хлоропластах листьев в ходе фотосинтеза на протяжении дня и расходуется ночью. Запасный крахмал формируется в виде гранул в специальных пластидах — амилопластах, которые находятся в семенах, корнях и клубнях, луковицах, фруктах и корневищах — ризомах (рис. 1: д, е). В этих частях растений крахмал хранится как источник энергии для прорастания.

ЧЕМ ОТЛИЧАЕТСЯ КРАХМАЛ У РАЗНЫХ РАСТЕНИЙ?

В оптическом микроскопе в проходящем свете мы видим гранулу как двумерный объект. В случаях, если гранула не сферическая, форма одного крахмального зерна может варьировать в различных проекциях (рис. 1: з).

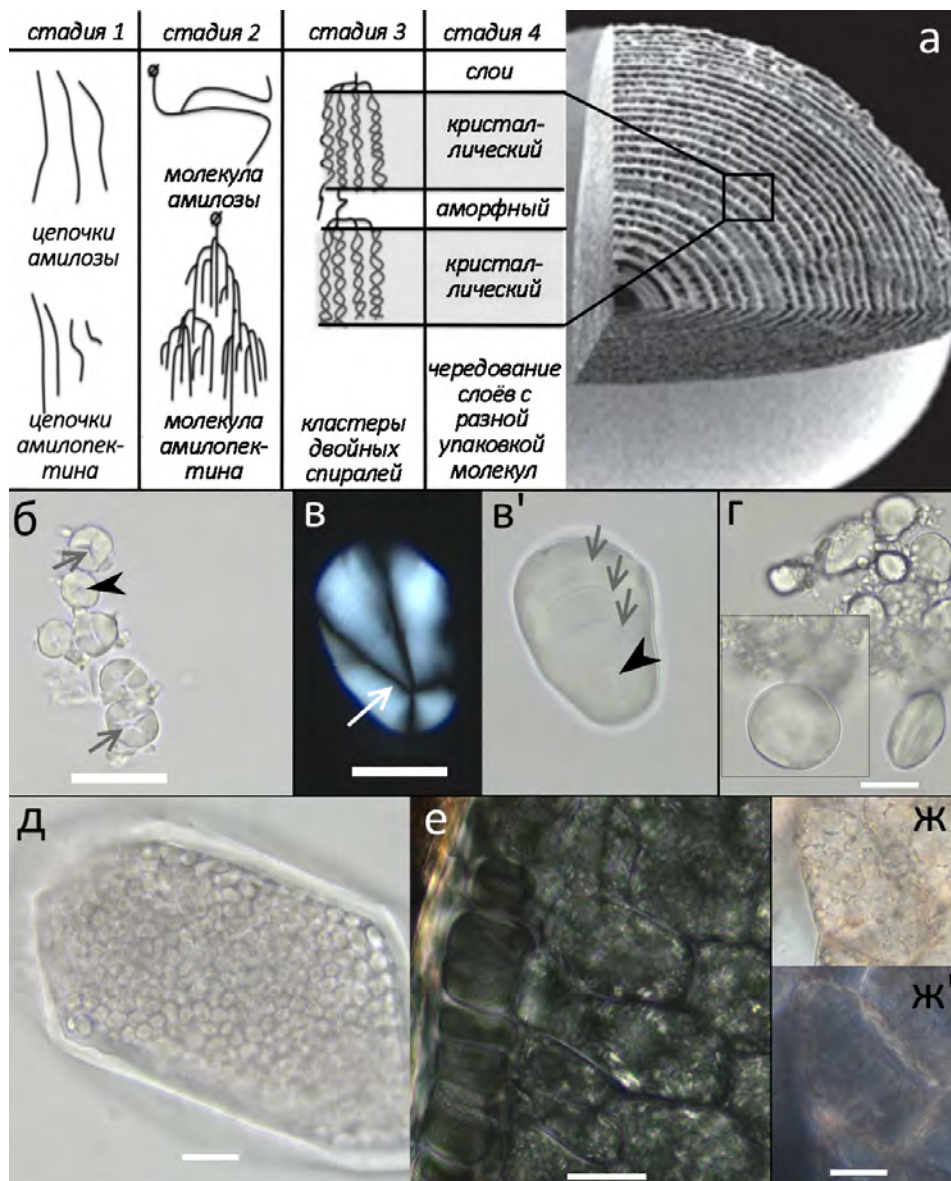


Рис. 1. Строение и морфологические характеристики крахмала:

а — стадии формирования слоистой структуры гранулы крахмала и её изображение в сканирующем электронном микроскопе (адаптировано по: Zeeman et al. 2010; Wang et al. 2014); б — крахмал проса итальянского (*Setaria italica*); в, в' — крахмал лилии даурской (*Lilium pensylvanicum*); г — крахмал ячменя обыкновенного (*Hordeum vulgare*), на вклейке вид спереди гранулы справа (вид сбоку); д — амилопласт с крахмалом костера полевого (*Bromus arvensis*); е — зерновка пырейника сибирского (*Elymus sibiricus*) с амилопластами; ж, ж' — амилопласты с желатинизированным крахмалом жёлудя дуба зубчатого (*Quercus dentata*);

б, в', г, д, ж — проходящий свет; в, е, ж' — проходящий свет, поляризация; б, в' — чёрная стрелка указывает на хилум; б — серые стрелки указывают на трещины в гранулах крахмала; в — белая стрелка указывает на поляризационный крест; в' — серые стрелки указывают на ламели.

Масштабная линейка — 20 мк, е — 50 мк

Поэтому необходимо представлять трёхмерную форму гранул. Набор таких форм и их размеров у одного вида также варьирует в зависимости от степени зрелости растения и стадии созревания самих гранул крахмала. «Молодые» гранулы, как правило, сферические у многих даже неродственных видов. Эти две причины — небольшой размер и преимущественно сферичная форма гранул временного крахмала — создают препятствие для его надёжной идентификации, которое до сих пор не преодолено.

Помимо морфологии и размера, гранулы крахмала обладают целым комплексом характеристик, позволяющих говорить о его видоспецифичности. Прежде всего, это расположение точки роста — хилума: в центре или смещённое к какой-либо стороне (рис. 1: б, в'). Хилум может быть видимым или невидимым в белом свете, но его легко определить в поляризации — он находится на точке пересечения лучей поляризационного креста (рис. 1: в). Если хилум виден в белом свете, то он может выглядеть как точка, круг или впадина¹. Крест поляризации варьирует по по углу схождения лучей (прямой/косой), по их кривизне, особенностям заломов. У некоторых растений видимость слоёв роста — ламелей — является характерной чертой (рис. 1: в'). У других эта особенность проявляется при повреждении гранул крахмала. Отличительными признаками могут быть трещины, их расположение и направление (рис. 1: б).

Помимо внешнего вида гранул, для нас имеют значение физико-химические характеристики крахмала, которые определяют его поведение в различных условиях тепла и влаги. Крахмал набухает в воде, но возвращается к своей первоначальной форме после высыхания, если температура остаётся ниже определённого уровня. Если же критическая температура достигается в присутствии влаги, большинство крахмальных гранул изменяются необратимо — происходит процесс клейстеризации/желатинизации (Liu, Zhao 1990). Они разбухают, теряют свойство двулучепреломления (рис. 1: ж, ж'). В итоге идентифицировать такой крахмал с помощью световой микроскопии без дополнительной химической обработки становится затруднительно. Например, индикатор Конго красный окрашивает такой крахмал в красно-розовый цвет (Cortella, Pochettino 1994). Для крахмала различных растений температурная точка клейстеризации отличается и варьирует в пределах 50—80°C (Reichert 1913; Haslam 2004).

Неповреждённый крахмал окрашивается йодом в тёмно-синий цвет. Голубую окраску приобретает амилоза (линейные цепочки молекул глюкозы), красную/коричневую/фиолетовую — амилопектин (разветвлённые цепочки). Однако у некоторых сортов кукурузы, содержащих много амилопектина, крахмал окрашивается в нетипичный красный/красно-коричневый цвет, а не синий (Haslam 2004). Но для целей археоботанических интерпретаций данный метод неприемлем, так как окрашивание делает невидимыми все остальные характеристики гранул крахмала, и этот процесс необратим.

КАК КРАХМАЛ СОХРАНЯЕТСЯ?

Первое задокументированное свидетельство того, что археологический крахмал сохраняет свои физико-химические свойства, относится к 1905 г.

¹ При этом важно понимать, что хилум находится внутри, а наличие круга, трещинок, валиков, разрывов и т.п. вокруг точки роста — отображение особенностей внутренней структуры гранулы.

Немецкий ботаник проф. Людвиг Витмак исследовал под микроскопом кусочек хлеба из Египта, датированный более 4000 л.н., и обнаружил качественную реакцию окрашивания содержащегося в нём крахмала на йод (Wittmack 1905). А в 60-х гг. XX в. палеонтолог Роберт Бакстер определил зёрна крахмала в окаменевших семенах вымершего растения *Cardiocarpus spinatus*, датированных палеозоем, и попытался установить его родство с ныне произрастающим реликтовым деревом *Ginkgo biloba* основываясь на сходстве морфологии и размеру крахмальных гранул (Baxter 1964).

С усовершенствованием метода анализа крахмала в конце XX — начале XXI в. исследованию на содержание данного вещества подверглись многочисленные артефакты и культурные отложения, найденные в различных климатических зонах: в аридных областях Африки, Австралии и Северной и Южной Америки, в тропических районах Юго-Восточной Азии, Океании и Южной Америки. Такие находки были сделаны в пещерах, гротах и на открытых ландшафтах. Результаты этих работ показали, что крахмал сохраняет характеристики, необходимые для его идентификации, в самых различных археологических контекстах: на артефактах, керамике, в зубном камне, копролитах, почве.

Во время во время становления метода и его совершенствования было ещё недостаточно экспериментальных исследований. Скепсис археологов касался самой возможности сохранности органического вещества в почве в течение тысячелетий. Бытовало представление, что любой крахмал, найденный в археологических отложениях, следует считать современным, возможно, перемещённым вниз по профилю почвы в погребённые культурные горизонты и на поверхность артефактов (Barton, Torrence 2015).

Мы предлагаем рассмотреть факторы, которые влияют на процессы разложения крахмала в почве и его сохранность на древних предметах. Это поможет разобраться с одним из главных вопросов касающихся метода анализа крахмала: действительно ли мы находим древний крахмал?

Упомянутые факторы можно разделить на две категории: связанные с физико-химическими характеристиками почвы (рН, температура, содержание влаги, текстура) и обусловленные наличием/отсутствием и функционированием почвенных компонентов (ферментов, бактерий, грибов, дождевых червей). К сожалению, для археологов не представляется возможным количественно измерить большинство из этих факторов, оценке поддаётся, пожалуй, только кислотность и элементный состав почвы. И подобных измерений для нужд археологической науки не проводилось.

Если рассматривать влияние факторов первой группы на физико-химические свойства крахмала, то только лишь кислотности почв, сезонных перепадов температур и наличия влаги недостаточно для разложения его в почве и на артефактах. Исключение составляет лишь возможное локальное воздействие открытого огня на вещество². Однако перечисленные обстоятельства будут способствовать разрушению крахмала в комплексе с воздействием факторов другой группы — ферментов, биологических катализаторов (объединены 2 предложения, требуется согласование с автором³. Они встречаются в каждом типе организма, включая растения,

² Например, горящее жилище, лесные пожары.

³ Ферменты обеспечивают гидролиз крахмала — реакцию взаимодействия с водой. В обычных условиях крахмал в воде нерастворим. Так как крахмал — полисахарид, то различные ферменты в несколько этапов разрушают его сложную молекулу на более

животных, грибы и бактерии. В естественных почвенных условиях ферменты непрерывно синтезируются микроорганизмами, накапливаются, инактивируются и разлагаются⁴. Поэтому большинство почв содержат «фоновый» уровень накопленных ферментов, точный состав которых будет зависеть как от истории, так и от текущего состояния почвы. Процесс разрушения гранул крахмала многоступенчатый и начинается с нарушения целостности оболочки. Механические повреждения, например, после измельчения растения, облегчают ферментам работу.

Эксперименты с непосредственным воздействием ферментов на крахмал показали стремительные скорости его разрушения в сопоставлении с археологической шкалой времени (Haslam 2004) (рис. 2: *a*). Поэтому не совсем понятно, как крахмал может сохраняться в археологических контекстах без специальной защиты. При этом свидетельств его исключительной сохранности в самых различных условиях во всём мире огромное множество, и они рассматриваются уже как вполне обычное явление.

Имеется несколько объяснений этого парадокса. Во-первых, крахмал может сохраняться за счёт количества гранул. Например, 1 г крахмала кукурузы содержит 1 000 000 000 гранул (Swinkels 1985). За счёт того, что гранулы крахмала попадают в почву сгустками и в амилопластах, площадь поверхности, которая подвержена действию разлагающих агентов, оказывается сниженной, кроме того, стенки клеток также осуществляют защитную функцию (Haslam 2004). Во-вторых, устойчивость к воздействию ферментов крахмалу придаётся и его многократным замораживанием и оттаиванием. Эти процессы перестраивают цепочки амилозы в гранулах крахмала, которые больше всего подвержены воздействию фермента амилазы (Neelam et al. 2012)⁵. Сохранность на каменных артефактах крахмала, не подвергавшегося воздействию высоких температур, объясняется ещё и тем, что гранулы, их сгустки и неразмолотые частички растений «забивались» в микропоры и трещины орудий. В-третьих, эксперименты со стремительной ферментацией крахмала, упомянутые в обзоре М. Хаслама (Haslam 2004), проводились не для археологических целей и не учитывали количество ферментов в каком-либо виде почв. Следовательно, ориентироваться на эти данные для оценки скорости разрушения крахмала в реальных условиях можно лишь приблизительно. Более корректны для нас результаты экспериментов по разложению крахмала в почве, упомянутые в той же работе. Но и они показали нестабильность скорости этого процесса. В качестве элементов, которые могут выполнять защитные функции в почве также рассматривались комочки почвы⁶, глина,

простые цепочки. Конечным результатом этого процесса будут молекулы простого сахара — глюкозы, воды и CO₂.

⁴ Это так называемые внеклеточные ферменты, которые производятся и выделяются во внешнюю среду микроорганизмами для разложения и переработки органического вещества постоянно поступающего в почву. Ферментативная активность почв сохраняется даже в случае снижения или прекращения микробиологической активности. Существенное влияние на работу ферментов в почве оказывают лишь температуры выше 100 °С (Хазиев 2015).

⁵ Такой крахмал используется в настоящее время в фармакологической промышленности. Устойчивый (резистентный) крахмал даёт возможность контролировать время его расщепления в организме при изготовлении лекарственных форм с необходимым временем высвобождения лекарственного вещества.

⁶ Скопления почвенных частиц. Их образованию способствует грибковая активность. Крахмал, заключённый в такие скопления, менее доступен как для самих грибов, так и для

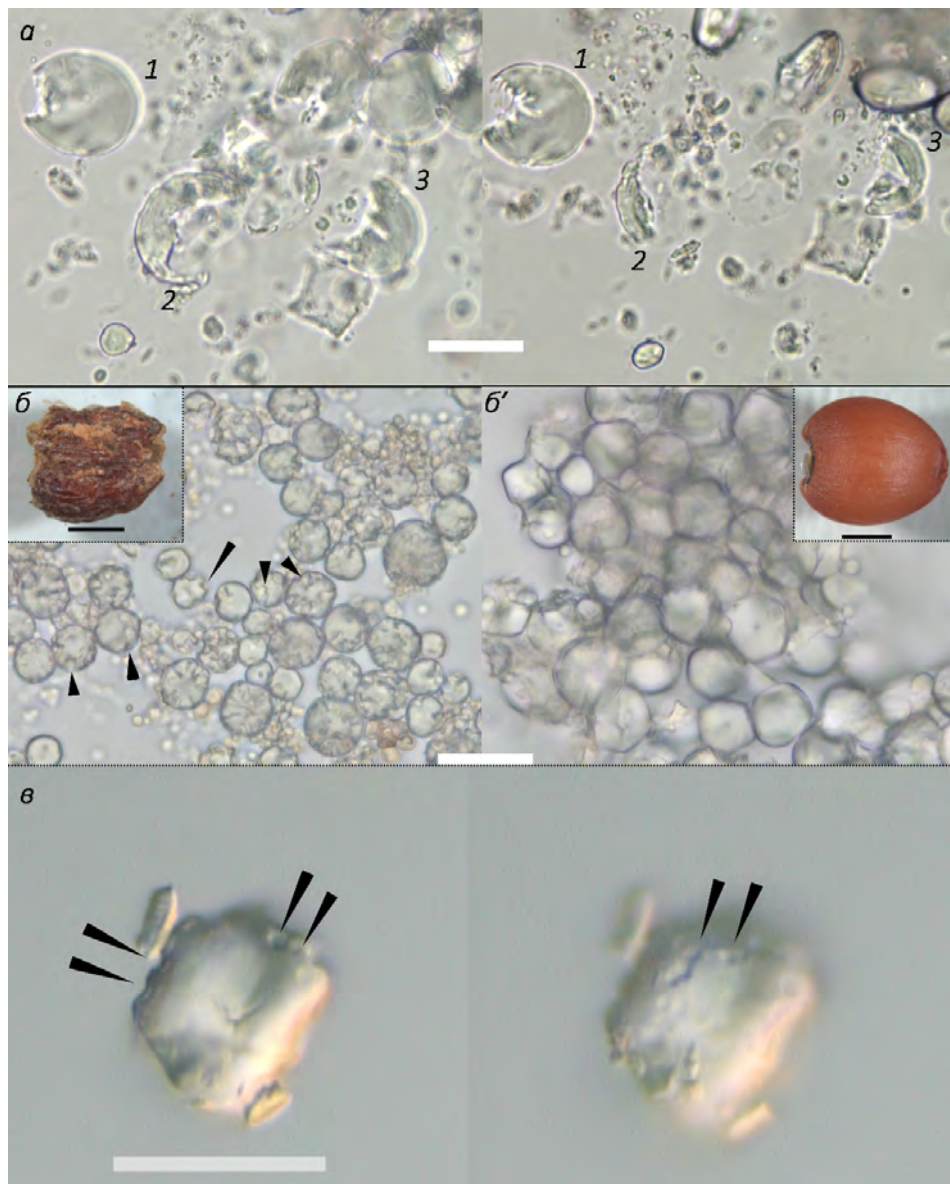


Рис. 2. Воздействие ферментов на крахмал:

a — воздействие фермента амилазы в слюне на крахмал ячменя в течение 5 мин. Однaкoвыми цифрами обозначены oдни и те же гранулы. Заметно прогрессирующее разрушение крахмала; *б* — крахмал бусенника (*Coix lacrima-jobi*) после воздействия ферментов бактерий и грибов. На вклейке — полуистлевшая зерновка. Стрелки указывают на типичные повреждения поверхности: кратеры и тоннели; *б'* — неповреждённый крахмал бусенника из целой зерновки (вклейка); *в* — археологический крахмал со следами ферментативного воздействия. Стрелками отмечены характерные кратеры на поверхности. Режим съёмки: *a—б'* — проходящий свет; *в* — проходящий свет, ДИК-контраст*; вклейки — бинокуляр, отражённый свет. Масштабная линейка: белая — 20 мк, чёрная — 2 мм

* ДИК-контраст — дифференциально-интерференционный контраст. Метод ДИК позволяет повысить контраст изображения и увеличить разрешающую способность микроскопа за счёт получения «псевдостереоэффекта» (Егорова 2007).

тяжёлые металлы⁷. Эти факторы снижали либо доступность крахмала для ферментативной атаки, либо активность самих ферментов. Кроме того, многочисленные почвенные ферменты отличаются по объекту атаки, значит, на целые гранулы будет действовать лишь ограниченное число разлагающих агентов (Хазиев 2015).

В случае с керамическими сосудами и даже фрагментами термически обработанной пищи всё не так очевидно. Наблюдения и эксперименты показали, что клейстеризация крахмалов во время приготовления каких-либо частей растений определяется внутренним содержанием в них влаги. Крахмал в клубнях (70—80% влаги) будет разрушаться быстрее, чем в семенах злаков и бобов (20—30% при сборе урожая и 10—15% при хранении). С другой стороны, сохранность крахмала в измельчённом продукте зависит от размера частиц. Разница будет определяться скоростью проникновения тепла и влаги внутрь тканей клубней, семян и т.д. (Crowther 2012). В то же время даже температуры уровня желатинизации и влаги может быть недостаточной, чтобы «разрушить» весь крахмал⁸. Эксперименты, в ходе которых обугливались остатки семян ячменя, показали, что при низкотемпературном обжиге (до 220 °С) сохраняются крахмалы с диагностическими структурами (Valamoti et al. 2008). Лишь при температуре выше 290 °С было отмечено, что гранулы крахмала гороха расплавляются и преобразуются в новые термостабильные вещества (Braadbaart et al. 2004). Является ли критический предел температуры видоспецифическим для крахмала — неясно.

ДЕЙСТВИТЕЛЬНО ЛИ КРАХМАЛ НА АРТЕФАКТАХ СВЯЗАН С ОБРАБОТКОЙ РАСТЕНИЙ?

Сомнения в связи крахмала на артефактах с деятельностью древнего человека основываются на двух справедливых замечаниях: крахмал мог попасть на предметы либо в результате современного загрязнения, либо из почвы.

Существует возможность того, что крахмал находится в воздухе и переносимая ветром пыль, содержащая крахмалы, пыльцу и фитолиты, попадает в археологические образцы и искажает результаты. Несколько исследований показали, что современные крахмалы, переносимые ветром, перераспределяются с близлежащих предприятий пищевой промышленности (Williamson 2006); крахмал из опудренных перчаток тоже один из известных загрязнителей (Loy, Barton 2006). Напротив, другие исследования установили либо незначительное количество крахмала в воздухе, либо его отсутствие (Zarrillo, Кооуман 2006). Также известно, что пыльца является потенциальным загрязнителем. Оказалось, размер и форма крахмалов, образовавшихся в пыльцевых зёрнах и в запасующих органах растения, могут совпадать (Laurence et al. 2011). Но так как только около 10% цветущих растений опыляются ветром, а большинству из них требуются опылители, то пыльцу как источник серьёзного загрязнения можно исключить. Наиболее существенные проблемы для исследователей могут

бактерий. Чем меньше такие комочки по размеру, тем больше шансов у крахмала сохраниться.

⁷ См. обзор литературы по этим вопросам (Haslam 2004: 1725).

⁸ Thoms et al. 2014 обнаружили, что варка клубней в различных ёмкостях, в том числе в земляных печах, в течение 12 ч при температуре 135—150 °С не приводит к полной деградации крахмалов. Были обнаружены как неповреждённые, так и частично желатинизированные гранулы.

возникнуть, когда потенциальные загрязняющие крахмалы пересекаются с археологическими крахмалами⁹.

В двух лабораториях Англии и Австралии проводилось исследование, направленное на выявление источников и оценку уровня загрязнения лабораторий современным крахмалом. Несмотря на специально оборудованные помещения с установленными фильтрами в воздуховодах, результаты показали присутствие современных крахмалов. Проведённый анализ многих материалов, используемых в процедуре извлечения древнего крахмала, выявил наличие на них гранул (Crowther et al. 2014). Подобные работы дают представления о возможных путях загрязнения и способах очистки лабораторий и инвентаря от современного крахмала.

Независимо от степени защищённости лабораторий и строгости соблюдения правил контроля загрязнения и очистки инвентаря действенным подходом является использование контрольных образцов, которые должны подвергаться той же обработке, что и древние образцы на всех этапах хранения, извлечения, обработки и анализа (Boyardjian et al. 2007). В конечном итоге именно это будет играть решающую роль в оценке вероятной степени загрязнения во время любой процедуры.

В настоящее время, чтобы избежать возможного переноса остатков на поверхность артефактов, стандартной практикой является анализ почвы с памятника. Отсутствие или различие типов крахмала в почве памятника и на артефакте рассматриваются как аргументы в пользу того, что остатки на орудиях есть результат их использования в древности. Как правило, производится пересчёт количества крахмала из почвы и артефакта на единицу веса отобранной пробы (Atchison, Fullagar 1998; Barton et al. 1998). Обычно частота встречаемости крахмала в почве значительно ниже, чем на поверхности артефакта. Связывают это с «защитным» действием предмета: в налипшей на поверхность почве крахмала содержится больше, чем в фоновых отложениях. Подобный эффект отмечался ранее в отношении пыльцы: она сохранилась под артефактами, притом что вмещающие отложения были стерильными (Kelso et al. 1995). Впоследствии подобные наблюдения были сделаны и на артефактах М. Хасламом (Haslam 2003). Поэтому содержание крахмала в прилипших к артефакту остатках стало расцениваться как более точный показатель его присутствия в почве в момент осадконакопления. Правда, сам Хаслам не проводил подсчёты ни по частоте встречаемости гранул крахмала в почве, прилипшей к артефактам с износом и без него, ни по частоте распределения крахмала по поверхности орудий. Кроме того, в упомянутом исследовании пыльцы анализировалась почва, не прилипшая к артефактам, а находившаяся под ними, поэтому трудно говорить, какое именно защитное влияние сами артефакты оказали как фактор. Понижение/повышение уровня влажности, температуры и других характеристик почвы в небольших пределах существенно снижают или прекращают деятельность почвенных микроорганизмов (Хазиев 2015). Можно предположить, что артефакты являются точками, вокруг которых происходят колебания упомянутых факторов. Детализированных исследований, которые однозначно бы засвидетельствовали, что крахмал в почве, прилипшей к артефактам, отражает естественный

⁹ Лаборатории, которые исследуют крахмалы древней кукурузы, более всего подвержены риску, так как кукурузная мука присутствует в широком спектре товаров.

фон в момент археологизации или проникновение его в почву с поверхности орудий, пока не проведено.

В любом случае известные наблюдения за содержанием крахмала в почвах и на артефактах облегчают выбор подхода, который стоит применять к исследованию таких орудий. Использование результатов трасологического анализа, точечный отбор образцов с различных поверхностей орудий, сбор контрольных образцов почвы и артефактов без следов работы с растениями поможет связать наличие крахмала на артефактах с конкретной деятельностью человека, либо рассматривать этот крахмал как отражение палеоэкологической ситуации.

КАК ПРАВИЛЬНО СОБРАТЬ ОБРАЗЦЫ ДЛЯ АНАЛИЗА ДРЕВНЕГО КРАХМАЛА?

Уже некоторое время группа изучения палеоэкологии отдела первобытной археологии ИИАЭ ДВО РАН занимается освоением и применением метода анализа древнего крахмала для реконструкции системы жизнеобеспечения первых земледельцев на территории Приморья (Пантюхина и др. 2018). Мы получили положительные результаты для различных типов образцов (артефакты, почва, керамика). В перспективе применение метода должно быть более доступным для археологов и стать неотъемлемой частью исследования памятников первобытной археологии.

Хотя метод позволяет использовать музейные коллекции¹⁰, при новых раскопках необходимо производить отбор и консервацию образцов с прицелом на будущие исследования. Соблюдение приводимых ниже методических рекомендаций позволит снизить риски загрязнения образцов и повысить достоверность результатов исследования. Рекомендации сводятся к трём аспектам: отбор, хранение, предотвращение загрязнения образцов.

Отбор образцов легко произвести, имея минимальный комплект простейших расходных материалов и тщательно соблюдая предложенные рекомендации. Для этого нам потребуются: неопудренные перчатки, новые пластиковые пакеты с замком, пластиковые контейнеры, щётки с жёсткой щетиной, совочки/ложки, йод, чистая вода.

Для исключения загрязнения современным крахмалом и перекрёстного загрязнения с других артефактов метод требует разового использования материалов или их термической обработки. Это может быть затратно по времени и финансам, а также трудоёмко, особенно в полевых условиях. В таком случае мы предлагаем использовать свой способ контроля над загрязнением образцов. Если мы не можем надёжно исключить фактор загрязнения, нужно сделать его заметным. Этот подход использует качественную реакцию крахмала на раствор йода — окрашивание. Поэтому достаточно запастись всего лишь несколькими наборами пищевых контейнеров, щёток, десятком пузырьков раствора йода и аспиратором.

¹⁰ Работа с музейными коллекциями требует понимания длительной истории конкретных артефактов, находящихся на хранении. Для большинства коллекций невозможен отбор контрольных образцов почвы. При изучении музейных орудий также можно проводить оценку достоверности и надёжности результатов исследований на крахмал. Этому будет способствовать удаление современной пыли обдувом, исследование поверхности под биноклем для выявления возможного поверхностного загрязнения современным крахмалом (при увеличении 100x сгустки крахмала становятся визуально различимы на поверхности), картирование артефакта и отбор проб на крахмал по схеме: отбор проб на крахмал с различных участков рабочих и нерабочих поверхностей.

Единственным расходным материалом — из-за их недолговечности — будут неопудренные перчатки.

Все материалы перед использованием необходимо обработать крепким раствором йода: замочить их на 15—20 мин в растворе, а затем промыть в чистой воде. Эту процедуру необходимо повторять после работы с каждым артефактом. Для ускорения процесса лучше иметь несколько таких наборов. В случае «конвейерной» обработки образцов пригодится отдельный контейнер с крепким раствором йода для промывки перчаток перед сменой образца. В случае попадания на материалы крахмала — современного или после других артефактов — раствор йода окрасит его, и уже при работе с самим крахмалом такие объекты будут исключены из анализа.

В процессе раскопок при обнаружении не только артефактов, но и различных объектов следует сразу маркировать и отбирать образцы. При изъятии артефактов не стоит сразу счищать с них землю¹¹. Орудие следует положить в пластиковый пакет и промаркировать, указывая всю возможную информацию. Также необходимо отобрать почвенные образцы под артефактом и сбоку от него и запаковать в разные пакеты с точным описанием. Имеет смысл включить в подборку и контрольные объекты (неутилитарные артефакты или камни) из того же слоя по аналогичной методике. Описанные действия позволят оценить содержание крахмала во вмещающих отложениях и установить его происхождение на артефактах. Будет полезным отбор образцов культурного слоя на различных участках археологических объектов. Процедуру следует проводить горизонтальными снятиями поверхности. Для образцов почвы достаточно 50 г. Также необходимо вести фотофиксацию процесса. В будущем это позволит не только уточнить процедуры сбора образцов, но и документально подтвердить надёжность процедуры сбора.

Выбранные артефакты необходимо обрабатывать и хранить отдельно. Мыть их, конечно, не рекомендуется, но это противоречит правилам камеральной обработки. Если почву необходимо удалить, лучше счищать сухую грязь с поверхности участками в отдельные ёмкости с фиксацией места отбора и затем перемещать в пакеты. Любые влажные образцы необходимо высушивать так, чтобы исключить возможное попадание современной пыли. На всех этапах очистки необходимо вести тщательную фотофиксацию, описание и маркировку. Эти рекомендации применимы и к каменным орудиям, и к керамическим образцам. Если керамику всё-таки придётся помыть, то лучше делать такую смывку с внешней и внутренней поверхностей в отдельные контейнеры без особой тщательности. В дальнейшем можно будет отобрать образцы непосредственно с поверхности черепков. Смывам нужно дать отстояться в течение одного часа. Затем аспиратором удалить жидкость, не касаясь поверхности осадка, насколько это возможно. Осадок высушить при температуре не более 40 °С и поместить в пакеты с маркировкой и описанием процедуры. Все использованные материалы нужно хорошо промывать и очищать в воде, замачивать в растворе йода и затем снова промывать и высушивать, предотвращая осаждение современной пыли.

¹¹ Очевидно, что множество нюансов во время раскопок будут влиять на соблюдение процедуры сбора образцов. Наиболее важным во всех случаях является принятие мер по сохранению максимально возможного количества материала и предотвращению его загрязнения.

При обнаружении объекта (жилище, очаг, хозяйственная яма и т.п.) имеет смысл отобрать серию почвенных проб. Распределение точек отбора может быть планиграфическим и стратиграфическим. Помимо этих образцов, необходимо сделать контрольные образцы почвы за пределами объекта на одном стратиграфическом уровне и вне его. Каждый образец нужно поместить в чистый пакет с маркировкой. Достаточным объёмом является 50 г почвы. Пробы необходимо высушить, исключив возможность нагревания выше 40 °С и попадания современной пыли.

Хранение почвенных образцов, высушенных и запечатанных в пакеты, не вызывает каких-либо сложностей. В полевых и лабораторных условиях необходимо проверять отсутствие конденсата в пакетах и при необходимости досушивать естественным способом, исключая попадание современной пыли и крахмалов. Чтобы ускорить процесс и не допустить возобновления микробной и ферментативной активности, лучше перфорировать пакеты. При хранении почвенные образцы должны иметь сопроводительную памятку, описание и фото процесса отбора на бумажном и цифровом носителе. Удобно поместить всё это в одну коробку.

Хранение артефактов требует больше внимания. Камеральная обработка должна исключать возможности заражения предметов современным крахмалом. Полезно заранее промаркировать такие артефакты и в дальнейшем работать с ними в неопудренных перчатках на чистых от бытовой пыли поверхностях, исключить присутствие какой-либо пищи. После работы с артефактом необходимо помещать его в пакет или накрывать. Удобно составить реестр подобных артефактов с указанием места хранения либо после окончания камеральной обработки хранить их в одном месте, снабдив сопроводительной информацией на бумажном и цифровом носителе.

КАК ПРЕДОТВРАТИТЬ ЗАГРЯЗНЕНИЯ ОБРАЗЦОВ?

Для этого нам необходимо решить две задачи: исключить попадание современного крахмала и перекрёстное загрязнение образцов. Способы достичь этого упоминались при рассмотрении этапов отбора и хранения образцов. Но необходимо резюмировать правила работы с образцами, отобранными для анализа древнего крахмала. Они просты и легко выполнимы. Помним о том, что крахмал липуч и может перемещаться по воздуху на различных частицах пыли, мусора и т.д.

Н е л ь з я :

- принимать пищу на раскопе и рядом с образцами;
- работать с образцами в кухонной зоне и зоне приёма пищи.

Н е о б х о д и м о :

- тщательно мыть руки после еды;
- использовать неопудренные перчатки на любом этапе работы с образцами; при работе с каждым артефактом надевать чистую пару перчаток (для почвенных образцов это требование не столь обязательно, только если вы не собираете почву руками);

• избегать повреждения корней растений при отборе образцов (если подобное произошло, необходимо либо отобрать новую пробу, либо убрать корни, высушить их и поместить в пакет с сомнительным образцом, снабдив соответствующей пометкой);

- тщательно очищать рабочие поверхности перед тем как выкладывать на них образцы (удалять пыль, снижать её летучесть);
- использовать очищенные контейнеры для размещения артефактов на рабочих поверхностях;
- использовать только новые пакеты для размещения образцов;
- весь многообразный инструментарий заливать крепким раствором йода на 15—20 мин после каждого использования, после чего высушивать естественным путём (исключая попадание современной пыли) или с помощью безворсовых салфеток, синтетических тканей;
- при камеральной обработке не использовать пластилин¹², но можно пользоваться скульптурной массой, она доступна в канцелярских магазинах;
- соблюдать технику безопасности: использовать йод на открытом воздухе или в хорошо проветриваемом помещении.

Итак, мы рассмотрели основные проблемные вопросы метода анализа крахмала. Расширение знаний об источнике поможет нам лучше понимать возможности, которые открывают исследования в области микроостатков, повысит качество и надёжность результатов. Значительным плюсом метода анализа крахмала является доступная всем археологам процедура отбора и хранения образцов, которая позволит в дальнейшем получить достоверные результаты и их обоснованные интерпретации. Необходимо учитывать, что со временем детали стираются из человеческой памяти, поэтому, чем больше информации будет зафиксировано в процессе отбора образцов, тем более многосторонним, качественным и надёжным исследование получится в будущем.

ЛИТЕРАТУРА

- Егорова О.В. 2007. *Техническая микроскопия. Практика работы с микроскопом для технических целей. С микроскопом на «ты»*. М.: Техносфера.
- Пантюхина И.Е., Вострецов Ю.Е., Иванов В.В. 2018. Метод анализа остатков древнего крахмала в эволюционной археологии: пример исследования. *Вестник ДВО РАН*. № 4, 95—104.
- Хазиев Ф.К. 2015. Функциональная роль ферментов в почвенных процессах. *Вестник Академии наук Республики Башкортостан*. Т. 20. № 2 (78), 14—24.
- Atchison J., Fullagar R. 1998. Starch Residues on Pounding Implements from Jinmium Rock-Shelter. Fullagar, R. (ed.). *A Closer Look: Recent Australian Studies of Stone Tool*. Archaeological Computing Laboratory, University of Sydney. Sydney, 109—125.
- Barton H., Torrence R., Fullagar R. 1998. Clues to Stone Tool Function Re-examined: Comparing Starch Grain Frequencies on Used and Unused Obsidian Artefacts. *Journal of Archaeological Science*. Vol. 25, 1231—1238.
- Barton H., Torrence R. 2015. Cooking up Recipes for Ancient Starch: Assessing Current Methodologies and Looking to the Future. *Journal of Archaeological Science*. Vol. 56, 194—201.
- Baxter R.W. 1964. Paleozoic Starch in Fossil Seeds from Kansas Coal Balls. *Transactions of the Kansas Academy of Science*. Vol. 67. № 3, 418—422.
- Boydjian C.H.C., Eggers S., Reinhard K.J. 2007. Dental Wash: a Problematic Method for Extracting Microfossils from Teeth. *Journal of Archaeological Science*. Vol. 34. Iss. 10, 1622—1628.
- Braadbaart F., Boon J.J., Veld H., David P., van Bergen P.F. 2004. Laboratory Simulations of the Transformation of Peas as a Result of Heat Treatment: Changes of the Physical and Chemical Properties. *Journal of Archaeological Science*. Vol. 31, 821—833.
- Cortella A.R., Pochettino M.L. 1994. Starch Grain Analysis as a Microscopic Diagnostic Feature in the Identification of Plant Material. *Economic Botany*. Vol. 48. Iss. 2, 171—181.
- Crowther A. 2012. The Differential Survival of Native Starch During Cooking and Implications for Archaeological Analyses: a Review.

¹² При производстве многих торговых марок пластилина используется крахмал.

- Archaeological and Anthropological Science*. Vol. 4, 221—235.
- Crowther A., Haslam M., Oakden N., Walde D., Mercader J. 2014. Documenting Contamination in Ancient Starch Laboratories. *Journal of Archaeological Science*. Vol. 49, 90—104.
- Haslam M. 2003. Evidence for Maize Processing on 2000 Year Old Obsidian Artefacts from Copan, Honduras. Hart, D.M., Wallis, L.A. (eds.). *Phytolith and Starch Research in the Australian-Pacific-Asian Regions: The State of the Art*. Papers from a conference held at the ANU, August 2001, Canberra, Australia. Canberra: Pandanus Books, 153—161.
- Haslam M. 2004. The Decomposition of Starch Grains in Soils: Implications for Archaeological Residue Analyses. *Journal of Archaeological Science*. Vol. 31, 1715—1734.
- Kelso G.K., Mrozowski S.A., Currie D., Edwards A.C., Brown M.R. III, Horning A.J., Brown G.J. and Dandoy J.R. 1995. Differential Pollen Preservation in a Seventeenth-century Refuse Pit, Jamestown Island, Virginia. *Historical Archaeology*. Vol. 29. Iss. 2, 43—54.
- Laurence A.R., Thoms A.V., Bryant V.M., McDonough C. 2011. Airborne Starch Granules as a Potential Contamination Source at Archaeological Sites. *Journal of Ethnobiology*. Vol. 31. Iss. 2, 213—232.
- Liu J.M., Zhao S.L. 1990. Scanning Electron Microscope Study on Gelatinization of Starch Granules in Excess Water. *Starke*. Vol. 42. Iss. 3, 96—98.
- Loy T., Barton H. 2006. Post-excavation Contamination and Measures for Prevention. *Torrence, R., Barton, H. (eds.). Ancient Starch Research*. Walnut Creek, California: Left Coast Press, 165—167.
- Neelam K., Vijay S., Lalit S. 2012. Various Techniques for the Modification of Starch and the Applications of its Derivatives. *International Research Journal of Pharmacy*. Vol. 3. Iss. 5, 25—31.
- Reichert E.T. 1913. *The Differentiation and Specificity of Starches in Relation to Genera, Species etc.: Stereochemistry Applied to Protoplasmic Processes and Products, as a Scientific Basis for Classification of Plants and Animals*. Washington: Carnegie Institute of Washington.
- Swinkels J.J.M. 1985. Sources of Starch, its Chemistry and Physics. *van Beynum, G.N.A., Roels, J.A. (eds.). Starch Conversion Technology*. New York: Marcel Dekker Inc., 15—46.
- Thoms A.V., Laurence A.R., Short L., Kamiya M. 2014. Baking Geophytes and Tracking Microfossils: Taphonomic Implications for Earth-Oven and Paleodietary Research. *Journal of Archaeological Method and Theory*. Vol. 22. Iss. 4, 1—36.
- Valamoti S.M., Samuel D., Bayram M., Marinova E. 2008. Prehistoric Cereal Foods from Greece and Bulgaria: Investigation of Starch Microstructure in Experimental and Archaeological Charred Remains. *Vegetation History and Archaeobotany*. Vol. 17, 265—276.
- Wang K., Henry R.J., Gilbert R.G. 2014. Causal Relations Among Starch Biosynthesis, Structure and Properties. *Springer Science Reviews*. Vol. 2, 15—33.
- Williamson B. 2006. Investigation of Potential Contamination on Stone Tools. *Torrence, R., Barton, H. (eds.). Ancient Starch Research*. Walnut Creek, California: Left Coast Press, 89—90.
- Wittmack L. 1905. Our Present Knowledge of Ancient Plants. *Transactions of the Academy of Science of St. Louis*. Vol. 15, 1—15.
- Zarrillo S., Kooyman B. 2006. Evidence for Berry and Maize Processing on the Canadian Plains from Starch Grain Analysis. *American Antiquity*. Vol. 71. Iss. 3, 473—499.
- Zeeman S.C., Kossmann J., Smith A.M. 2010. Starch: its Metabolism, Evolution, and Biotechnological Modification in Plants. *Annual Review of Plant Biology*. Vol. 61, 209—234.

THE ANCIENT STARCH ANALYSIS METHOD IN QUESTIONS AND ANSWERS

I.E. Pantyukhina

The article discusses the main problematic issues regarding the application of the method of analysis of ancient starch. The method, which has recently begun to spread in foreign archeology, as one of the means of reconstructing the subsistence of an ancient people, remains insufficiently used in Russian science. One of the reasons for this is the poor knowledge among archaeologists about the basic processes of the starch “life” and the basis of the method. The questions raised in the article are the most frequently asked by colleagues during conferences and discussions.

Starch is a natural substance included in the carbon cycle together with other sources of plant biomass. Its complex polymer molecule is formed on the basis of glucose, one of the most common sources of energy in living organisms. Therefore, starch is an energy reserve for both short and long-term storage. The structural features of this substance depend on plant genetics, and this allows the starch of different taxa to be separated using optical microscopy methods.

The article discusses the factors that affect the safety of starch in various conditions in relation to archaeological contexts and time scales. The basic characteristics of starch, on which the identification of plant taxa is based, are briefly described. Of primary importance for reconstructions and interpretations are the solidity and authenticity of the evidence. The paper discusses the main doubt among skeptics: is ancient starch really related to human activities? The problem of contamination of samples with modern starches is touched upon and the principles of prevention and control are outlined. The specificity of starch allows us to collect samples for future research. Available recommendations on the selection and storage of archaeological samples for the analysis of ancient starch are offered.

Keywords: archaeology, ancient starch analysis method, starch features, archaeological starch preservation, starch degradation factors, starch sampling.

REFERENCES

- Egorova O.V. 2007. *Tekhnicheskaya mikroskopiya. Praktika raboty s mikroskopami dlya tekhnicheskikh tseley. S mikroskopom na "ty"* [Technical microscopy. Specifics of working with microscopes for technical purposes. Being on short terms with a microscope]. Moscow: Tekhnosfera.
- Pantuykhina I.E., Vostretsov Yu.E., Ivanov V.V. 2018. Metod analiza ostatkov drevnego krahmala v evolyutsionnoy arkheologii: primer issledovaniya [Method of starch residue analysis in evolutionary archaeology: case of study]. *Vestnik DVO RAN*, № 4, 95—104.
- Khaziev F.K. 2015. Funktsional'naya rol' fermentov v pochvennykh protsessakh [Functional role of enzymes in soil processes]. *Vestnik Akademii nauk Respubliki Bashkortostan*. T. 20. № 2 (78), 14—24.
- Atchison J., Fullagar R. 1998. Starch Residues on Pounding Implements from Jinmium Rock-Shelter. Fullagar, R. (ed.). *A Closer Look: Recent Australian Studies of Stone Tool*. Archaeological Computing Laboratory, University of Sydney. Sydney, 109—125.
- Barton H., Torrence R., Fullagar R. 1998. Clues to Stone Tool Function Re-examined: Comparing Starch Grain Frequencies on Used and Unused Obsidian Artefacts. *Journal of Archaeological Science*. Vol. 25, 1231—1238.
- Barton H., Torrence R. 2015. Cooking up Recipes for Ancient Starch: Assessing Current Methodologies and Looking to the Future. *Journal of Archaeological Science*. Vol. 56, 194—201.
- Baxter R.W. 1964. Paleozoic Starch in Fossil Seeds from Kansas Coal Balls. *Transactions of the Kansas Academy of Science*. Vol. 67. № 3, 418—422.
- Boyadjian C.H.C., Eggers S., Reinhard K.J. 2007. Dental Wash: a Problematic Method for Extracting Microfossils from Teeth. *Journal of Archaeological Science*. Vol. 34. Iss. 10, 1622—1628.
- Braadbaart F., Boon J.J., Veld H., David P., van Bergen P.F. 2004. Laboratory Simulations of the Transformation of Peas as a Result of Heat Treatment: Changes of the Physical and Chemical Properties. *Journal of Archaeological Science*. Vol. 31, 821—833.
- Cortella A.R., Pochettino M.L. 1994. Starch Grain Analysis as a Microscopic Diagnostic Feature in the Identification of Plant Material. *Economic Botany*. Vol. 48. Iss. 2, 171—181.
- Crowther A. 2012. The Differential Survival of Native Starch During Cooking and Implications for Archaeological Analyses: a Review. *Archaeological and Anthropological Science*. Vol. 4, 221—235.
- Crowther A., Haslam M., Oakden N., Walde D., Mercader J. 2014. Documenting Contamination in Ancient Starch Laboratories. *Journal of Archaeological Science*. Vol. 49, 90—104.
- Haslam M. 2003. Evidence for Maize Processing on 2000 Year Old Obsidian Artefacts from Copan, Honduras. Hart, D.M., Wallis, L.A. (eds.). *Phytolith and Starch Research in the Australian-Pacific-Asian Regions: The State of the Art*. Papers from a conference held at the ANU, August 2001, Canberra, Australia. Canberra: Pandanus Books, 153—161.

- Haslam M., 2004. The Decomposition of Starch Grains in Soils: Implications for Archaeological Residue Analyses. *Journal of Archaeological Science*. Vol. 31, 1715—1734.
- Kelso G.K., Mrozowski S.A., Currie D., Edwards A.C., Brown M.R. III, Horning A.J., Brown G.J. and Dandoy J.R. 1995. Differential Pollen Preservation in a Seventeenth-century Refuse Pit, Jamestown Island, Virginia. *Historical Archaeology*. Vol. 29. Iss. 2, 43—54.
- Laurence A.R., Thoms A.V., Bryant V.M., McDonough C. 2011. Airborne Starch Granules as a Potential Contamination Source at Archaeological Sites. *Journal of Ethnobiology*. Vol. 31. Iss. 2, 213—232.
- Liu J.M., Zhao S.L. 1990. Scanning Electron Microscope Study on Gelatinization of Starch Granules in Excess Water. *Starke*. Vol. 42. Iss. 3, 96—98.
- Loy T., Barton H. 2006. Post-excavation Contamination and Measures for Prevention. Torrence, R., Barton, H. (eds.). *Ancient Starch Research*. Walnut Creek, California: Left Coast Press, 165—167.
- Neelam K., Vijay S., Lalit S. 2012. Various Techniques for the Modification of Starch and the Applications of its Derivatives. *International Research Journal of Pharmacy*. Vol. 3. Iss. 5, 25—31.
- Reichert E.T. 1913. *The Differentiation and Specificity of Starches in Relation to Genera, Species etc.: Stereochemistry Applied to Protoplasmic Processes and Products, as a Scientific Basis for Classification of Plants and Animals*. Washington: Carnegie Institute of Washington.
- Swinkels J.J.M. 1985. Sources of Starch, its Chemistry and Physics. *van Beynum, G.N.A., Roels, J.A. (eds.). Starch Conversion Technology*. New York: Marcel Dekker Inc., 15—46.
- Thoms A.V., Laurence A.R., Short L., Kamiya M. 2014. Baking Geophytes and Tracking Microfossils: Taphonomic Implications for Earth-Oven and Paleodietary Research. *Journal of Archaeological Method and Theory*. Vol. 22. Iss. 4, 1—36.
- Valamoti S.M., Samuel D., Bayram M., Marinova E. 2008. Prehistoric Cereal Foods from Greece and Bulgaria: Investigation of Starch Microstructure in Experimental and Archaeological Charred Remains. *Vegetation History and Archaeobotany*. Vol. 17, 265—276.
- Wang K., Henry R.J., Gilbert R.G. 2014. Causal Relations Among Starch Biosynthesis, Structure and Properties. *Springer Science Reviews*. Vol. 2, 15—33.
- Williamson B. 2006. Investigation of Potential Contamination on Stone Tools. *Torrence, R., Barton, H. (eds.). Ancient Starch Research*. Walnut Creek, California: Left Coast Press, 89—90.
- Wittmack L. 1905. Our Present Knowledge of Ancient Plants. *Transactions of the Academy of Science of St. Louis*. Vol. 15, 1—15.
- Zarrillo S., Kooyman B. 2006. Evidence for Berry and Maize Processing on the Canadian Plains from Starch Grain Analysis. *American Antiquity*. Vol. 71. Iss. 3, 473—499.
- Zeeman S.C., Kossmann J., Smith A.M. 2010. Starch: its Metabolism, Evolution, and Biotechnological Modification in Plants. *Annual Review of Plant Biology*. Vol. 61, 209—234.