

古代人の食生活を推定する方法として、調理に使用したと考えられる土器に残存している有機物質、特に脂質を分析する手法が知られている。古代人の食材は、土壌中の微生物や酸性土壌によって分解されるため、貝塚のように動物遺体が大量に集積された遺構、焼骨や炭化種子といった安定な状態の遺物から推定されてきた。近年、土器で調理した食材中の有機物が土器胎土に浸透し、雨水などに洗い流されることなく残存していることがわかってきた。不飽和脂肪酸やグリセリドなどは不安定で分解されやすいが、残存する脂質には、バイオマーカーとして利用できる物質も多く含まれる。

本研究では、北海道函館市南茅部地区から出土した土器を試料として用いた。本稿では、この土器胎土に残存している脂質組成をガスクロマトグラフ質量分析法 (GC-MS) で測定して、バイオマーカー解析を行った。また、主要な脂肪酸であるパルミチン酸、ステアリン酸の分子レベル炭素同位体組成 ($\delta^{13}\text{C}_{16:0}$ 、 $\delta^{13}\text{C}_{18:0}$) を燃焼炉付ガスクロマトグラフ質量分析法 (GC-IRMS) で分析して、土器で煮炊きした有機物の起源推定を行った。

2. 試料と分析方法

分析対象は、垣ノ島遺跡及び大船遺跡から出土した縄文時代中期後葉の榎林式土器である。土器内側の胎土をデンタルドリルで採取し、分析を行った (表 1、図版 1)。

脂質の抽出にあたっては、Correa-Ascencio and Evershed (2014) と Papakosta et al. (2015) を参考に改良した直接メチル化脂質抽出分析法を用いた。測定の手順は以下の通りである。

【直接メチル化脂質抽出分析法】

1. 粉末にした土器胎土を試験管に入れ、メタノール 2mL を加え、超音波洗浄機で 15 分振とう後、さらに 200 μL の硫酸を加え、70°C で 4 時間加温。
2. メタノール溶液中の脂質を n-ヘキサン溶液で抽出し、ヘキサン層を新たな試験管に分離する。この操作を 3 回繰り返し。
3. ヘキサン溶液に固体炭酸カリウムを加え、中和。
4. 中和したヘキサン溶液を、窒素気流中でおだやかに蒸発乾固させ、残存脂質を得る。
5. 抽出した脂質に、内部標準として C₃₄ アルカンを加え、測定前に *N,O*-Bis(trimethylsilyl) trifluoroacetamide (BSTFA) 溶液でトリメチルシリル化 (TMS) 化し、試料溶液とする。
6. 水素炎イオン化型検出器 (FID) 付ガスクロマトグラフ分析装置で脂質組成と含有量を確認する。
7. GC-MS で、脂質組成を測定。
8. GC-C-IRMS で、パルミチン酸、ステアリン酸の分子レベル炭素同位体組成 ($\delta^{13}\text{C}_{16:0}$ (‰)、 $\delta^{13}\text{C}_{18:0}$ (‰)) を測定。

測定は東京大学総合研究博物館タンデム加速器分析室 (MALT) に設置した分析装置を用いた。

使用した分析装置と標準試料を表2に示す。

表2 分析装置と標準試料

分析装置

FID付ガスクロマトグラフ分析装置(GC)	GC-2014(島津製作所)
ガスクロマトグラフ質量分析装置(GC-MS)	Thermo ISQ LT GC-MS(Thermo Fisher Scientific社)
燃焼炉付ガスクロマトグラフ同位体比質量分析装置(GC-C-IRMS)	
ガスクロマトグラフ	Agilent7890B(Agilent Technologies社)
燃焼炉	GC5(Elementar UK社)
質量分析計	Isoprime(Micromass社)

標準試料

脂肪酸エステル8種混合ヘキサン溶液F8-2(Indiana大学)

3. 結果と考察

函館市大船遺跡、垣ノ島遺跡から出土した土器胎土(HDMK-#)に含まれる脂質組成から、バイオマーカー分析を行った(表3)。

表3 脂質組成

試料 No.	脂肪酸濃度 ($\mu g/g$)	長鎖炭化水素	飽和脂肪酸	不飽和脂肪酸	グリセリド	長鎖アルコール	イソプレノイド	水溶性/ケトンを含む脂	二塩基酸	環構造を含む脂肪酸	ケトン	ステロール類	テルペン類	その他の脂質
108	19	$C_{17}, C_{19}, C_{20}, C_{22}$	$C14:0, C15:0, C15:0br, C16:0, C16:0br, C17:0, C17:0br, C18:0, C18:0br, C18:1, C18:1br, C20:0, C22:0, C24:0$	$C18:1, C18:1, C20:1,$	-	-	phyanoic acid,	-	-	-	-	-	-	4-hydroxy- α -hexadecanoic acid lactone, stearolactone, dihydrochabbiolic acid, 7-oxo-dihydrochabbiolic acid(RR28,16, 55X), Wax-C28, 30, 32, 34, 36,
109	4	$C_{16}, C_{17}, C_{19}, C_{20}, C_{21}, C_{22}, C_{24}, C_{26}$	$C13:0, C14:0, C15:0, C15:0br, C16:0, C16:0br, C17:0, C17:0br, C18:0, C18:0br, C18:1, C20:0, C21:0, C22:0, C24:0, C26:0, C28:0,$	$C16:1, C22:1,$	-	-	phyanoic acid	-	$C14, C16, C18, C17,$	APA- $C16?$	-	-	-	4-hydroxy- α -hexadecanoic acid lactone,
110	25	$C_{16}, C_{17}, C_{19}, C_{20}, C_{21}, C_{22}$	$C12:0, C13:0, C14:0, C15:0, C16:0, C17:0, C17:0br, C18:0, C18:0br, C18:1, C18:1br, C20:0, C21:0, C22:0, C24:0, C26:0,$	$C18:1, C22:1,$	-	-	phyanoic acid, TMTD(vsa)	-	$C9, C10, C11, C14, C15, C16,$ その他は成分が identified されておらず、推定されます。	-	-	-	-	carvophyllyl alcohol, Wax-C32, C34, C36, その他は推定されず、推定されます。
111	18	$C_{16}, C_{17}, C_{19}, C_{20}, C_{21}, C_{22}$	$C13:0, C14:0, C15:0, C15:0br, C16:0, C17:0, C17:0br, C18:0, C18:0br, C18:1, C20:0, C21:0, C22:0, C24:0, C26:0,$	$C18:1, C22:1,$	-	-	phyanoic acid,	-	$C14,$ あるかもしれないが、他の peak と重なって推定されます。	-	-	-	-	n-dodecyl- α -hexanoate 5.7%,
112U	-	$C_{16}, C_{17}, C_{19}, C_{20}, C_{21}, C_{22}, C_{24}, C_{26}$	$C14:0, C15:0, C16:0, C18:0, C20:0, C21:0, C22:0, C24:0,$	$C18:1,$	-	-	-	-	-	-	-	-	-	n-dodecyl- α -hexanoate?
112L	6	$C_{17}, C_{18}, C_{19}, C_{20}, C_{21}, C_{22}, C_{24}, C_{26}$	$C14:0, C15:0, C16:0, C18:0, C20:0, C21:0, C22:0, C24:0,$	$C18:1,$	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
116U	-	$C_{17}, C_{18}, C_{19}, C_{20}, C_{21}, C_{22}, C_{23}, C_{24}, C_{26}$	$C14:0, C15:0, C16:0, C17:0, C18:0, C20:0, C21:0, C22:0, C24:0,$	$C18:1,$	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
118L	8	$C_{16}, C_{17}, C_{18}, C_{21}, C_{23}, C_{24}, C_{26}$	$C14:0, C15:0, C16:0, C17:0, C18:0, C18:0br, C20:0, C21:0, C22:0, C24:0,$	$C18:1,$	-	-	phyanoic acid,	-	-	-	-	-	-	trans-calimannone, 4-isopropyl-1,8-dimethyl-naphthalene, Wax-C28, C30, C32, C34, C36,
118U	7	$C_{17}, C_{18}, C_{19}, C_{20}, C_{21}, C_{22}, C_{23}, C_{24}, C_{25}, C_{26}$	$C14:0, C15:0, C15:0br, C16:0, C17:0, C17:0br, C18:0, C18:0br, C20:0, C21:0, C22:0, C24:0,$	$C18:1, C22:1,$	-	-	phyanoic acid, TMTD,	-	-	APA- $C18, C20, C22,$	-	-	-	4-hydroxy- α -hexadecanoic acid lactone, stearolactone, dihydrochabbiolic acid, 7-isopropyl-1,8-dimethyl-naphthalene, Wax-C28, C30, C32, C34, C36,
121	12	C_{17}, C_{18}, C_{19}	$C12:0, C13:0, C14:0, C15:0, C15:0br, C16:0, C16:0br, C17:0, C17:0br, C18:0, C18:0br, C18:1, C20:0, C21:0, C22:0, C24:0,$	$C18:1, C20:1,$	-	-	phyanoic acid, TMTD(vsa),	-	3-oxo-undecanoic acid(R23,64, 42X)	APA- $C18, C20, C22,$	-	-	-	carvophyllyl alcohol, 4-isopropyl-1,8-dimethyl-naphthalene, Wax-C28, C30, C32, C34, C36,
122	91	-	$C13:0, C14:0, C15:0, C15:0br, C16:0, C16:0br, C17:0, C17:0br, C18:0, C18:0br, C18:1, C20:0, C21:0, C22:0, C24:0,$	$C18:1, C18:1, C20:1, C24:1,$	-	-	phyanoic acid, TMTD,	-	$C10, C11, C14, C16, C17, C18, C19,$ その他は成分が identified されておらず、推定されます。	APA- $C18, C18, C20, C22,$	-	-	-	stearolactone(R22,75, 44X)
124	5	C_{17}, C_{18}	$C14:0, C15:0, C15:0br, C16:0, C16:0br, C17:0, C17:0br, C18:0, C18:0br, C18:1, C20:0, C22:0,$	-	-	-	phyanoic acid,	-	ND	APA- $C16, C18, C20, C22,$	-	-	-	carvophyllyl alcohol, Wax-C28, C30, C32, C34, C36,

多くの土器から共通して、 $C_{12:0} \sim C_{24:0}$ の直鎖飽和脂肪酸とともに、 $C_{16:1}$ 、 $C_{18:1}$ 、 $C_{20:1}$ 、 $C_{22:1}$ などの不飽和脂肪酸とともに、水棲動物のマーカーであるプリスタン酸、フィタン酸、TMTDなどのイソプレノイド類、さらに、芳香環を含む炭素数 16、18、20、22 の脂肪酸、 ω - (o-alkylphenyl)alkanoic acid (APAA- C_{18}) が検出された。APAA は、天然にはほとんど存在しないが、不飽和脂肪酸が 270 °C ないし 300 °C 以上に加熱されると、生成することが報告されている。したがって、APAA の存在は、土器中で不飽和脂肪酸を含む油脂類が加熱されたことを示す。また、炭素数 20 以上の APAA が検出されているため、土器胎土に吸着した脂質は魚類や海獣類などからなる海産物を起源とすると考えられる。また、長鎖炭化水素やワックス類を含むため、何らかの植物を含む。

したがって、バイオマーカー分析の結果からは、土器で調理されたものは魚類や海獣類などの海産物と、植物の混合と考えられる。

次に、分析した主要脂肪酸であるパルミチン酸、ステアリン酸の分子レベル炭素同位体組成 ($\delta^{13}C_{16:0}$ (‰)、 $\delta^{13}C_{18:0}$ (‰)) を表 4 に記す。

表 4. パルミチン酸、ステアリン酸の分子レベル炭素同位体組成

Sample ID	$\delta^{13}C_{16:0}$	$\delta^{13}C_{18:0}$
HDMK-#	‰	‰
108	-23.2	-23.9
109	-22.4	-21.6
110	-23.2	-22.2
111	-22.8	-21.6
112U	—	—
112L	-25.1	-25.7
116U	—	—
116L	-26.8	-29.5
118U	-22.1	-23.0
118L	-22.3	-21.1
121	-21.0	-19.9
122	-22.1	-22.4
124	-24.9	-28.4

図 1 はその抽出したパルミチン酸・ステアリン酸の分子レベル炭素同位体組成を、現生日本産生物データと比較して示したものである。

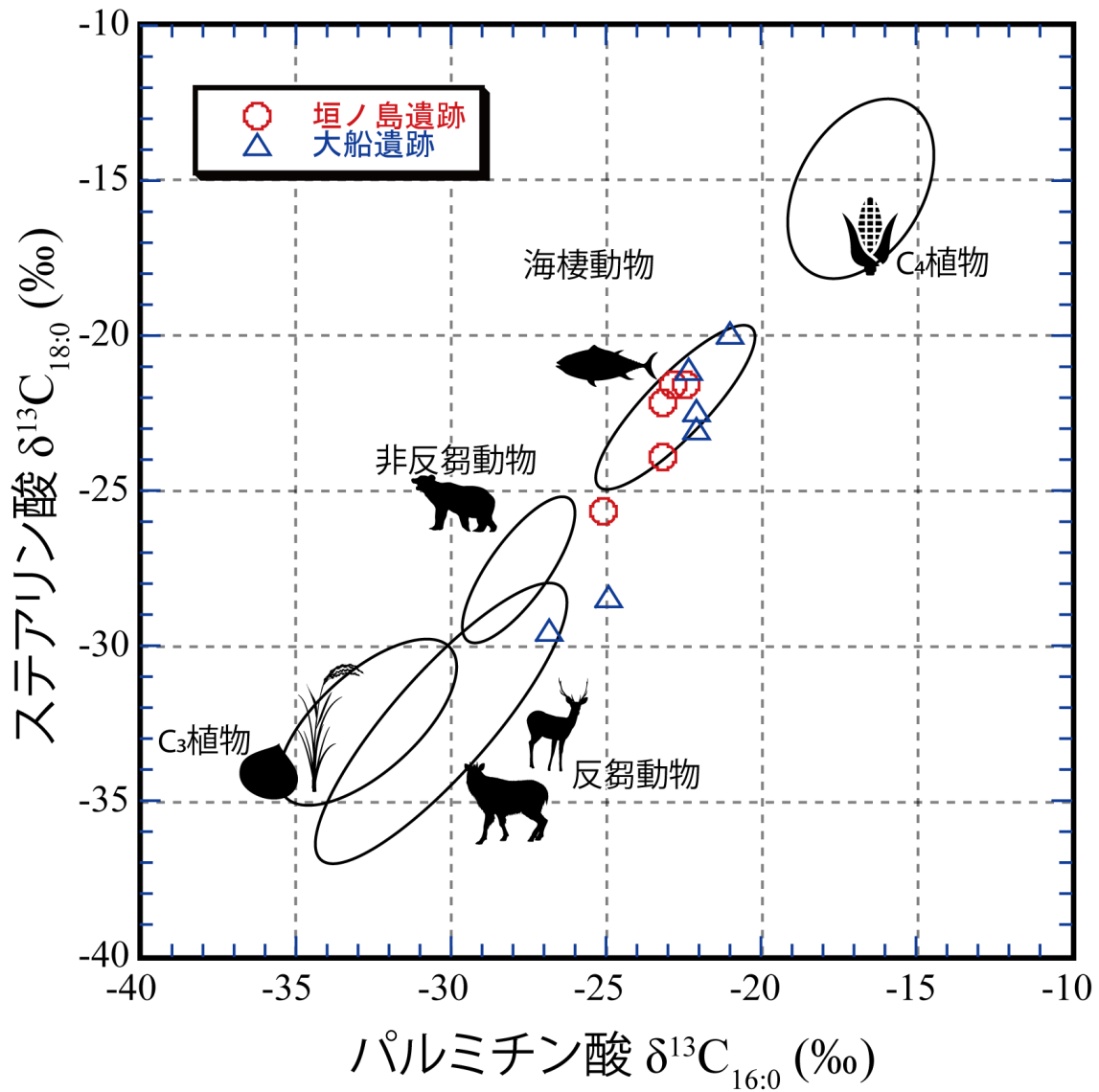


図1. パルミチン酸、ステアリン酸の分子レベル炭素同位体組成を、現生日本産生物データと比較。現生生物から推定される各端成分の領域を楕円で示した。

土器胎土から抽出したパルミチン酸・ステアリン酸からなる脂肪酸の分子レベル炭素同位体組成では、多くの試料が海産魚類や海獣類など海棲動物の領域を中心に分布した。しかし、大船遺跡の2点（HDMK-116L、124）は、海棲動物よりも低い同位体組成を示し、C₃植物やエゾシカなどの反芻動物の影響を、それ以外の9点よりも強く反映している可能性が高い。総じて、分子レベル炭素同位体組成の分析結果から、魚類や海獣類などからなる海産物を主体とする脂質に、植物質や非反芻動物の影響が伺われる。バイオマーカー解析の結果とは整合的である。

4. まとめ

垣ノ島遺跡及び大船遺跡より出土した縄文時代中期後葉の榎林式土器胎土の脂質分析を行った。バイオマーカー分析、分子レベル炭素同位体測定の結果を組み合わせると、中期後葉の時期、土器で煮炊きされた食材は魚類や海獣類などからなる海産物が主体であるが、(エゾシカなど)陸上動植物資源を含むと推定された。

今後、南茅部地域の縄文時代早期や前期土器を脂質分析し、縄文時代における当該地の煮炊き調理の様相、変遷を復元したい。

謝辞

本研究助成事業をすすめるにあたり、平野千枝学芸員をはじめ縄文文化交流センター職員の方々や函館市教育委員会福田裕二主査には、土器試料提供、採取などに関して、多大なご協力を頂きました。また、土器脂質分析に関しては、本学総合研究博物館タンデム加速器分析室脂質分析プロジェクトの宮内信雄氏、堀内晶子元上級准教授にご協力を頂きました。以上の方々に、厚く御礼を申し上げます。

引用・参考文献

- Allen J. St. Angelo and Robert L. Ory (1983) Lipid degradation during seed deterioration. *Phytopathology* 73 (2), 315-317.
- Bush RT. And McInerney FA. (2013) Leaf wax n-alkane distributions in and across modern plants: implications for paleoecology and chemotaxonomy. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 117, 161-79.
- Correa-Ascencio, M. and Evershed RP. (2014) High throughput screening of organic residues in archaeological potsherds using direct acidified methanol extraction. *Analytical Method* 6, 1330-1340.
- Dobson G., Christie WW. and Sebedio, JL. (1996) Monocyclic saturated fatty acids formed from oleic acid in heated sunflower oils. *Chemistry and Physics of Lipids* 82, 101-110.
- Evershed RP. (2008) Experimental approaches to the interpretation of absorbed organic residues in archaeological ceramics. *World Archaeology* 40 (1), 26-47.
- Evershed RP., Copley MS., Dickson L. and Hansel FA. (2008) Experimental evidence for the processing of marine animal products and other commodities containing polyunsaturated fatty acids in pottery vessels. *Archaeometry* 50 (1), 101-113.
- Hansel FA., Copley MS., Madureira LAS. and Evershed RP. (2004) Thermally produced ω -(o-alkylphenyl)alkanoic acids provide evidence for the processing of marine products in archaeological pottery vessels. *Tetrahedron Letters* 29, 2999-3002.
- Hansel FA. and Evershed RP. (2009) Formation of dihydroxy acids from Z-monounsaturated alkenoic acids and their use as biomarkers for the processing of marine commodities in archaeological pottery vessels. *Tetrahedron Letters* 50, 5562-5564.

- Heron C. and Evershed RP. (1993) The analysis of organic residues and the study of pottery use. *Archaeological Method and Theory* 5, 247-284.
- Horiuchi, A., Miyata, Y., Kamijo, N., Cramp, L. and Evershed RP. (2014) A dietary study of the Kamegaoka culture population during the final Jomon period, Japan. using stable isotope and lipid analyses of ceramic residues. *Radiocarbon* 57, 721-736.
- 堀内晶子・宮田佳樹・上條信彦 (2014) 脂質分析から観えてきた青森県今津遺跡出土縄文土器の用途、日本文化財科学会第 31 回大会要旨集、奈良教育大学、pp. 348-349.
- Kevin Robards, Amanda F. Kerr and Emillios Patsalides (1988) Rancidity and its measurement in edible oils and snack foods. A review. *Analyst* 113, 213-224.
- Miyata, Y., Horiuchi, A. Paleo Labo AMS Dating Group and Nishimoto, T. (2009) Trace of sea mammals on pottery from the Hamanaka 2 archaeological site, Rebun Island, Japan: Implications from sterols, stable isotopes, and radiocarbon dating. *Researches in Organic Geochemistry* 25, 15-27.
- Miyata, Y., Horiuchi, A., Kondo, M., Onbe, S., Yoshida, K., Nagao, S., Paleo Labo AMS Dating Group and Nishimoto, T. (2016) Marine reservoir effects deduced from ^{14}C dates on pottery residues, bones, and molluscan shells from the Hamanaka 2 archaeological site, Rebun Island, Hokkaido, Japan. *Radiocarbon* 58, 755-770.
- 宮田佳樹・堀内晶子・Lucy Cramp・南雅代・中村俊夫・Richard Evershed (2013) 礼文島浜中 2 遺跡出土土器の脂質分析、日本文化財科学会第 30 回大会要旨集、京都大学、pp. 334-335.
- 宮田佳樹・堀内晶子・高田秀樹・中村俊夫 (2015) 土器胎土脂質分析による海獣資源利用の評価—礼文島浜中 2 遺跡、真脇遺跡出土土器など—、日本文化財科学会第 32 回大会要旨集、東京学芸大学、pp. 40-41.
- Papakosta, V., Smittenberg RH., Gibbs Kevin., Jordan P., Isaksson S. (2015) Extraction and derivatization of absorbed lipid residues from very small and very old samples of ceramic potsherds for molecular analysis by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) and single compound stable carbon isotope analysis by gas chromatography-combustion-isotope ratio mass spectrometry (GC-C-IRMS). *Microchemical Journal* 123, 196-200.
- 山本正伸 (2004) 有機分子による地球表層環境の解析と復元. 石渡良志・山本正伸編, 有機地球化学. 培風館, pp. 269-273.