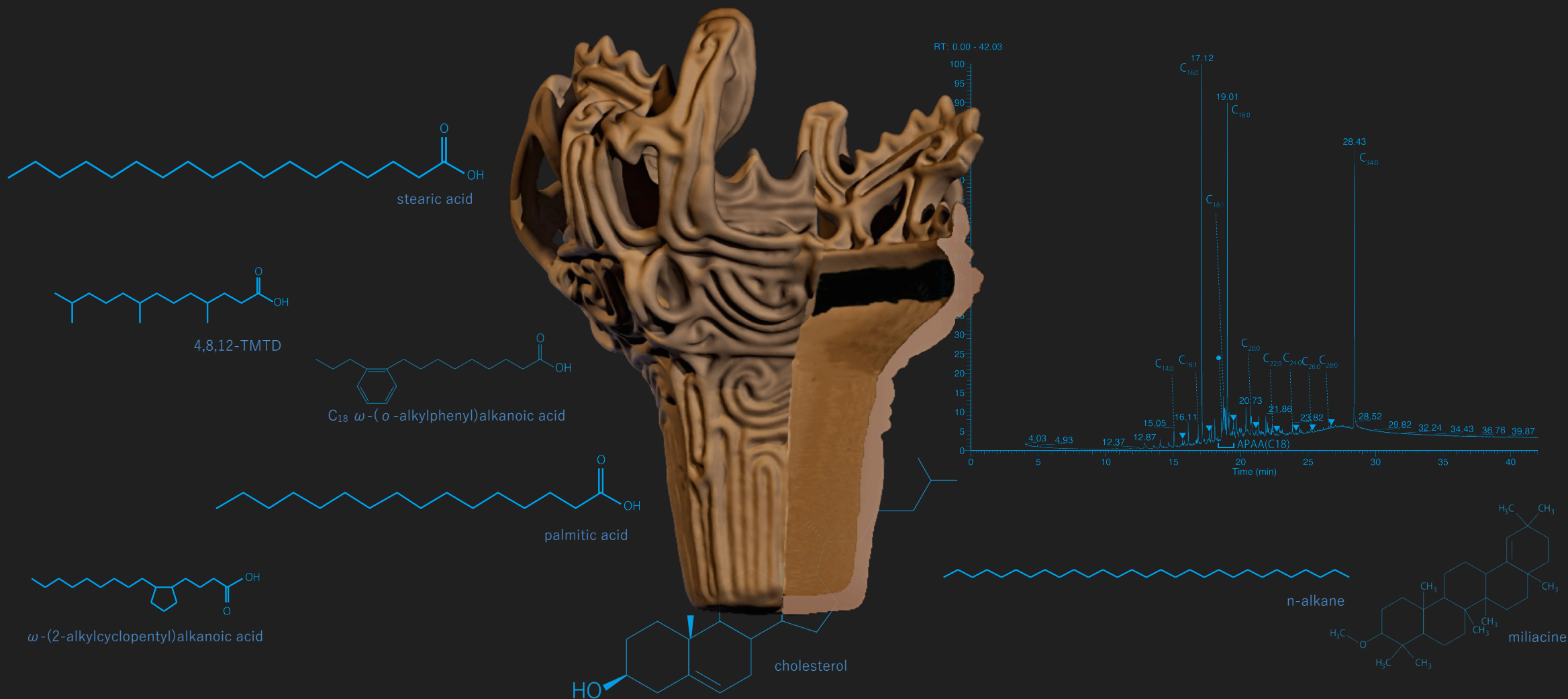




しりたいあなたの脂質分析

下記の素材を加工利用しました
<https://sketchfab.com/3d-models/flamepots-ce7aedf779a741239c664ba3d6c4448a>
(所有者:長岡市立科学博物館、製作者:九州国立博物館、大塚オーミ陶業株式会社、長岡市)

はじめに

脂質分析とは、

考古資料に残存する脂質を抽出・分析して、
その脂質がどんな生物や素材に由来するのか
推定する方法。

こんなものを分析しました

- 土器
 - 石器（石皿や磨石などの擦り潰すもの）
 - ミツロウ
 - 生物組織（植物、動物）・骨
 - 土壌
 - 不明な付着物（アスファルト？、ニカワ？）
- などなど…

たとえば土器ならば

- 食材は魚？お肉？植物？
 - 土器の大きさやかたちで、調理法に違いはある？
 - 地域や時期による、調理・食材の違いはある？
 - 立地環境や伴出遺物から推定される食との整合性は？
 - 本当に調理に利用していたの？
- さまざまな手がかりが得られることに期待

土器を使った煮炊きのイメージ



脂質とは？

- 生物由来の有機物
- 水にほとんど溶けない
- 有機溶媒に溶けやすい

だから、地下水などに溶けずに、長期間土器に残りえる。

※有機溶媒：他の物質を溶かす性質を持った有機化合物のこと。アルコール類、アセトン、クロロホルムなど。

土器に残る脂質

リン脂質 ステロール類など



トリアシルグリセロール

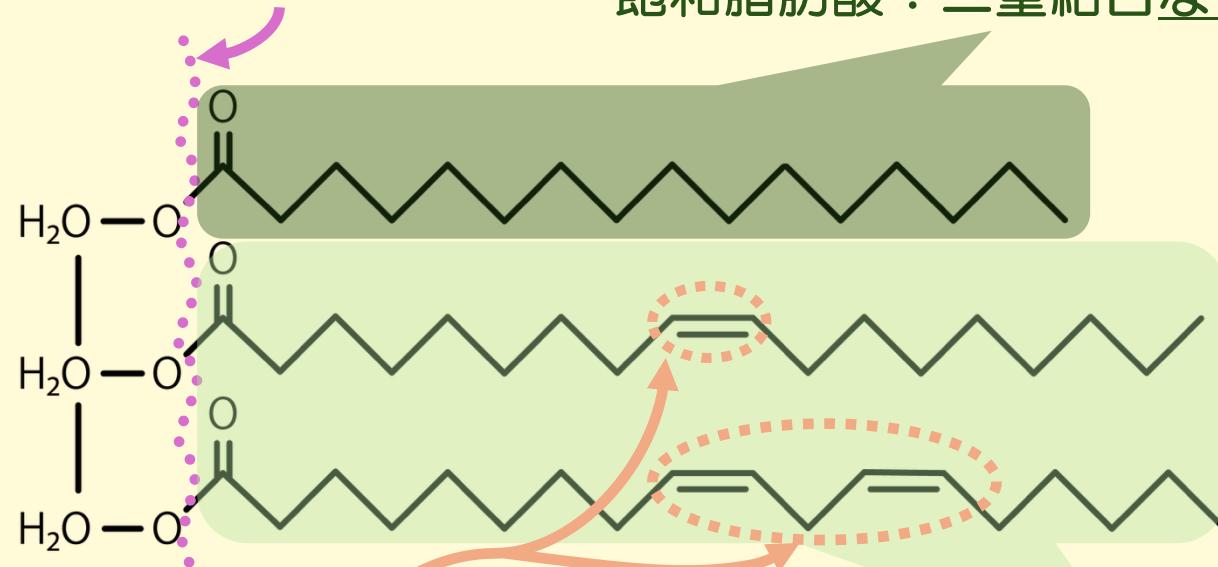
およそ9割は、
トリアシルグリセロール由来

トリアシルグリセロール

：1つのグリセロールに3つの脂肪酸が結合したもの

ここは分離しやすいよ

飽和脂肪酸：二重結合なし



グリセロール

脂肪酸

二重結合/ここで分解したり、
変性しやすいよ

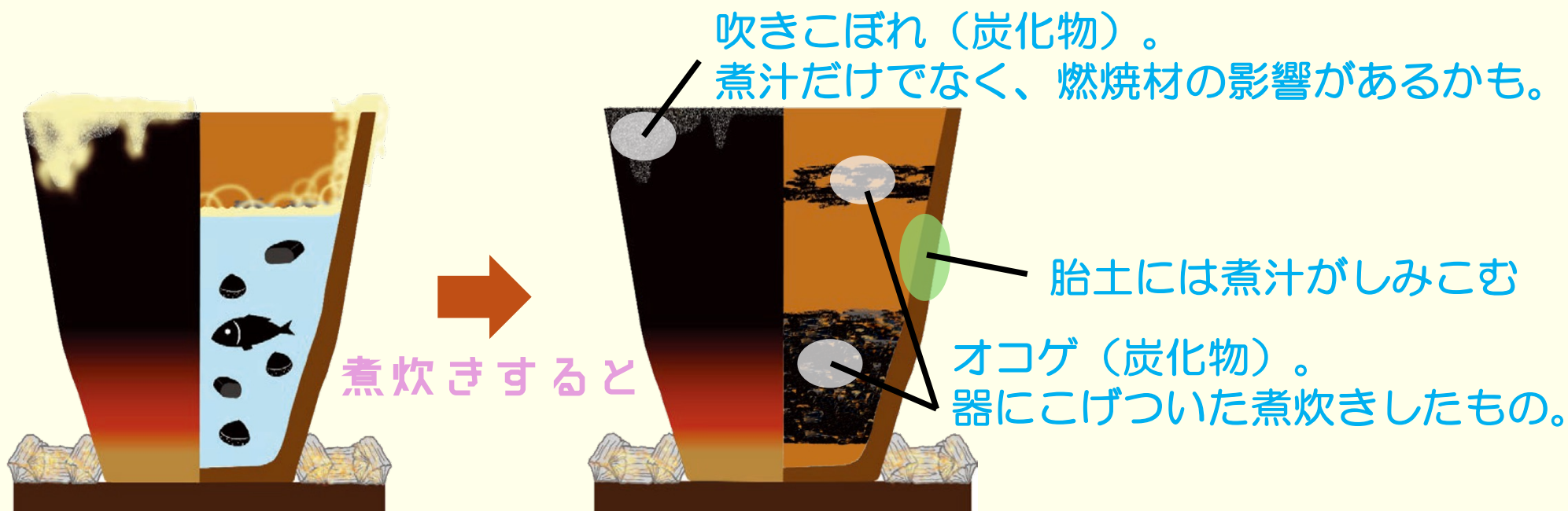
不飽和脂肪酸：二重結合あり

廃棄後、長期間を経た土器に残る脂質の多くは飽和脂肪酸。
生物一般に含まれる、ステロール類なども残っている。
その他、脂質が変性したものや、分解された破片も見つかる。

分析のながれ 1 - 試料 -

土器だと試料は2種類

- 付着炭化物
- 土器胎土

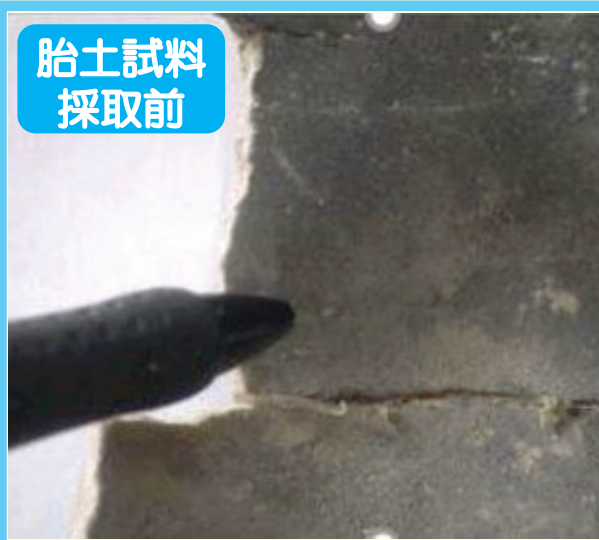
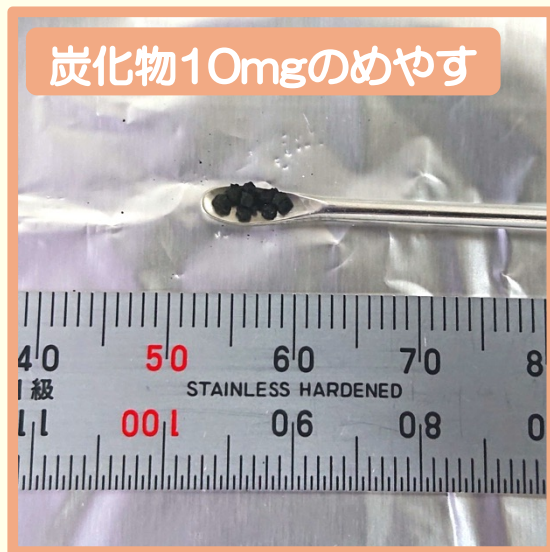


分析のながれ 1 - 試料 -

必要な試料量

- 付着炭化物：20～30mg
- 土器胎土：100mg以上

※FME法の場合



表面を剥いで、新鮮面から胎土粉末を採取。3～4cm²くらいの範囲を削れば、たいていの場合には必要最小限の試料量を得ることができる。注記や接着剤は、分析の妨げになるので、避ける。

分析のながれ 2 - 抽出 -

試料に残存する脂質を有機溶媒で抽出する。

- 総脂質抽出法（Total Lipid Extract : TLE法）
- 酸メタノール法（Acidified Methanol Extract : AME法）

の2つの抽出方法を使用。

分析のながれ 2 - 抽出 -

TLE法

- クロロホルム：メタノールで脂質を抽出
- 土器胎土なら2g、付着炭化物なら100g以上の試料量が必要。

通常は、AME法のみで分析する。

“植物質の情報が得られる可能性を広げたい”

という理由などで、要望がある場合はTLE法も併用する。

AME法

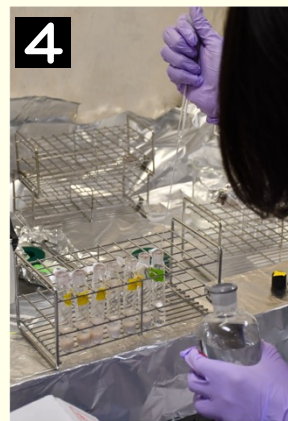
- メタノールと硫酸で脂質を抽出。
- TLEより脂質抽出力が強いいため、必要な試料量も少なく済む（前掲の通り）。
- TLEよりも抽出作業も簡便。
- レボグルコサン（セルロースやデンプンの分解生成物）など、硫酸に分解されるため、分析できない有機物がある。

分析のながれ 2 - 抽出 -

AME法による抽出の手順



1 試料を入れた試験管に、メタノールを加える



4 試験管に、ヘキサンを加える

5 よくかき混ぜる

6 遠心分離機でヘキサン層を分ける



2 超音波洗浄機にかける

3 硫酸を加えて、70℃で4時間加温する



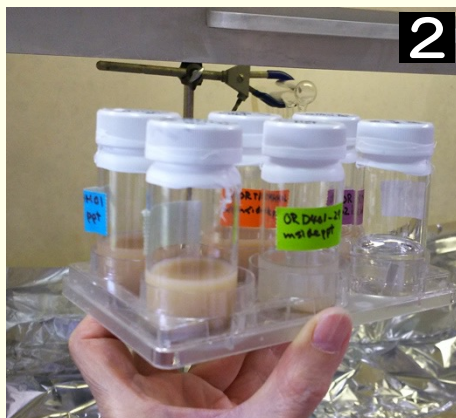
7 ヘキサン層を別の試験管に移し、残った硫酸を純水で除去
4～7は3回繰り返す

8 ヘキサン溶液を別のバイアルに移す

9 ヘキサン溶液を蒸発乾固

分析のながれ 2 - 抽出 -

TLE法による抽出の手順

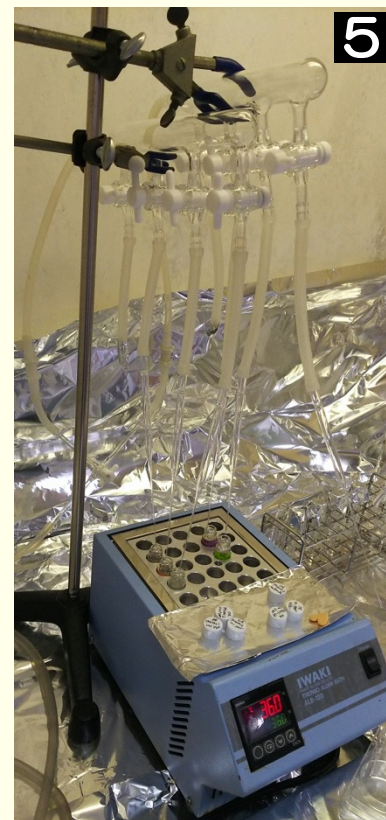


1 試料を入れたバイアルに、クロロホルム：メタノール混液を加え、超音波洗浄機にかける

2 しばらく静置して、

3 上澄みを試験管に移す

4 試験管を遠心分離機にかける
1～4は3回繰り返す



5 試験管の溶液を別のバイアルに移して、蒸発乾固

6 蒸発乾固させたバイアルにクロロホルム：メタノール混液を足し、シリカカラムでろ過後、溶液を蒸発乾固

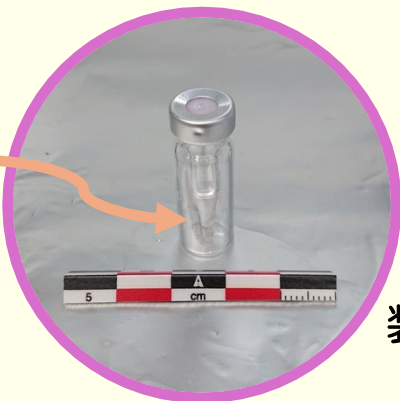
分析のながれ 3 - 測定 -



誘導体化

装置で分析しやすい化合物になるように、試料を処理

中の液体が
試料だよ



脂肪酸量の確認

脂肪酸量をGC-FIDで確認
多すぎてもダメ、少なすぎても
信頼ある測定ができないので、
試料調整のめやすとする

装置にかける試料の状態



バイオマーカー の分析

GC-MS（ガスクロマト
グラフ質量分析計）で、
試料に含まれる脂質の検
出、同定を行う

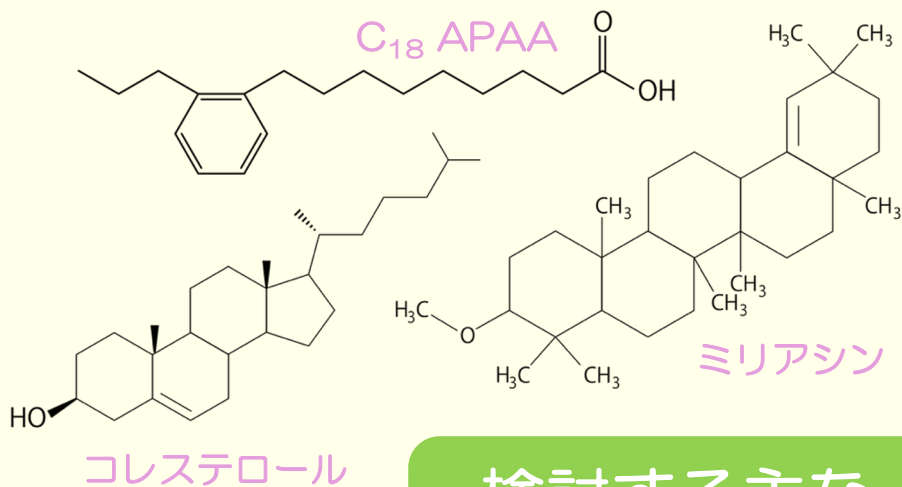


個別脂肪酸の 分子レベル 炭素安定同位体 分析

GC-C-IRMS（燃烧炉付
ガスクロマトグラフ同位
体比質量分析装置）で、
パルミチン酸とステアリ
ン酸の炭素同位体比を測
定する

バイオマーカー分析

バイオマーカーとは、特定の生物に由来する成分。また、特定の条件下で生成される有機物もある。検出されたバイオマーカーから、試料の由来を推定できる。



検討する主な
バイオマーカー

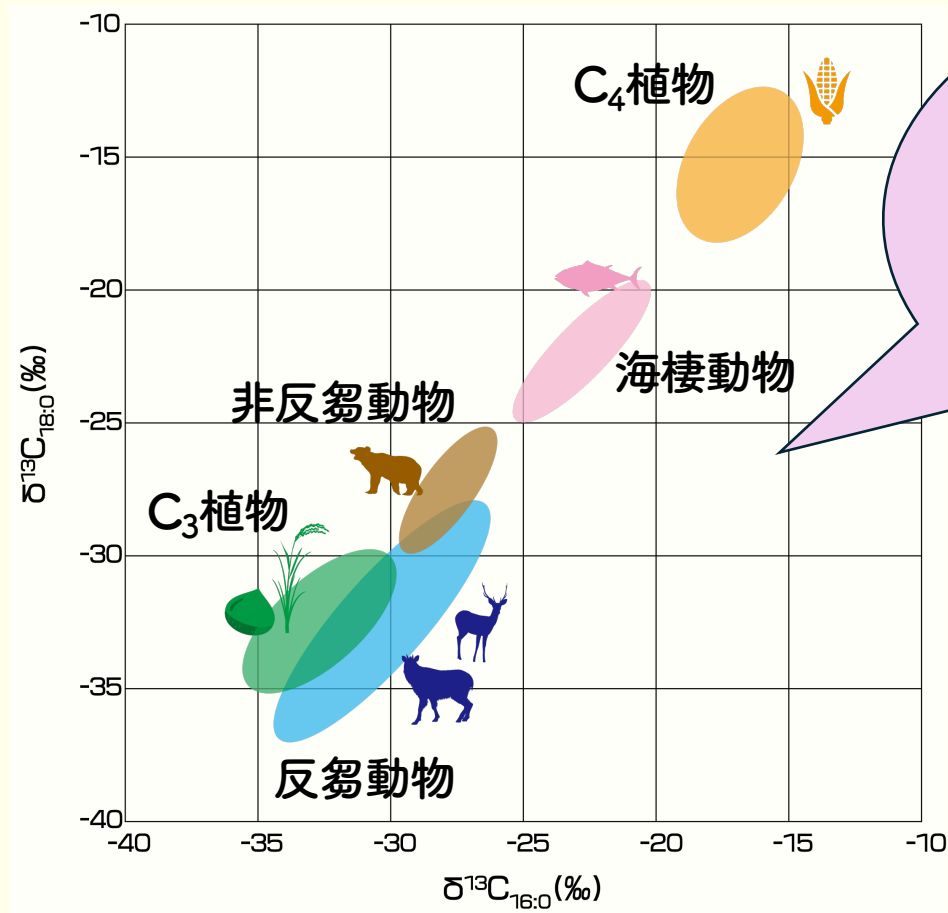
由来	名称		特記事項
植物性	中・長鎖炭化水素		
	超長鎖飽和脂肪酸		
	植物性ステロール	カンペステロール	
		シトステロール	
		スティグマステロール	
		スティグマスタノール	
	テルペン類	アミリン	
		フリーデリン	
		ミリアシン	キビのバイオマーカー
	ワックス類（高級脂肪酸エステル）		
	長鎖アルコール		
	レボクルコサン		FME処理では分解されてしまう
動物性	動物性ステロール	コレステロール	
		コレスタノール	
水棲動物	イソプレノイド類	フィタン酸	炭素数20以上のAPAAとの組み合わせで確実な水棲動物のバイオマーカーとなる
		ブリストタン酸	
		TMTD（トリメチルトリデカン酸）	
加熱履歴	APAA（アルキルフェニルアルカン酸；炭素数16～24）		270℃以上の加熱で生成される
	ACPA（アルキルシクロペンチルアルカン酸）		140℃～200℃の加熱の維持で生成される

“バイオマーカーが出なかった”からといって、試料にその由来が含まれていなかったとは限らない、という点には注意だよ

個別脂肪酸の分子レベル 炭素安定同位体分析

飽和脂肪酸の2種類、炭素数16のパルミチン酸と、炭素数18のステアリン酸の炭素同位体比($\delta^{13}\text{C}$)について、試料と生物グループが持つ範囲を比較することで、試料の脂肪酸の由来について推定できる。

CSIA(Compound Specific Isotope Analysis)という略語も使われるよ



複数の生物グループが含まれている場合、それぞれの混合比や脂肪酸濃度の多寡で、同位体比が変わってくるよ

生物グループと、パルミチン酸とステアリン酸の炭素同位体比