

Analýza stabilních izotopů C a N zachovalých v kolagenní složce kostní tkáně. Stabilní prvky se užívají také k rekonstrukci složení potravy u historických populací. První práce na tomto poli byly publikovány v letech 1977 a 1978 v USA a týkaly se rekonstrukce výživy indiánských populací stravou bohatou na kukuřici. Následovala práce, která mapovala množství masité a rostlinné stravy u indiánských populací prostřednictvím stabilních izotopů uhlíku. Od té doby proběhlo mnoho výzkumů, které rekonstruovaly složení potravy populací na celém světě a pokoušely se o rekonstrukci potravy obsahující suchozemské i mořské složky potravy. Zajímaly se vztah konzumovaných rostlin a povahy klimatu nebo vzájemný poměr mezi rostlinnou a masitou složkou potravou.

Základní koncepce výzkumu z chemického hlediska

Jak víte z chemie a fyziky, jsou izotopy látky, které se od sebe liší množstvím neutronů, ale mají stejný počet protonů. Stabilní izotopy mají stabilní strukturu a nemění se v jiné prvky, jako je tomu u radioaktivních izotopů. Izotopy, které jsou z biologického hlediska důležité jsou uhlík, dusík, síra a kyslík. Všechny se vyskytují v několika izotopech. Např. uhlík se vyskytuje ve formách C12, C13, C14. C12 se s přírodě vyskytuje v 98,9%, C13 v 1,1% a C14 v 10 na -12%. C12 se při fotosyntéze dostává do rostlin ve větším množství než C13, to znamená, že poměr C13/C12 v atmosféře je větší než poměr těchto prvků v rostlinné tkáni. Říká se tomu frakcionizace.

Poměry izotopů se vyjadřují v delta jednotkách

Delta Xstd= (vzorek R/ standard R) x 1000

Kde Xstd je poměr izotopů v delta jednotkách ke standardu, vzorek R a standard R jsou absolutní poměry vzorku a standardu. Pro izotopy uhlíku se poměr izotopů vyjadřuje

$$\text{Delta } 13 \text{ C promile} = \left(\frac{\text{C13/C12 vzorek}}{\text{C13/C12 standard}} - 1 \right) \times 1000$$

Za standard je v případě uhlíku považován uhličitán z mořských fosilních vrstev formace Peedee v Jižní Karolině a označuje se zkratkou PDB (Peedee belemnite). Standardem pro dusík je atmosférický vzduch zkratka AIR. Dalšími standardy jsou SMOW (standard mean ocean water) pro kyslík a vodík a CD (canion diablo meteorite) pro síru.

Zatímco hodnoty C13 v přírodě překračují 100 promile, rostlinné a živočišné tkáně obsahují obvykle C13 v rozpětí -28 až -5 delta C13. Tyto hodnoty mají negativní hodnotu ke standardu PDB, protože proces fotosyntézy způsobuje frakcionizaci obsahu stabilních izotopů ve vzduchu (delta C13 -7) v mořské vodě je to nula delta C13 = nula promile což je méně než je obsah C13 v organismech. Hodnoty izotopů dusíku v rostlinách a organismech mají kladnou hodnotu v poměru ke standardu a pohybují se od 0 promile v luštěninách do + 15 ve vyšších živočiších.

Hladiny izotopů v rostlinách a vztah mezi složením potravy a hodnotami izotopů v živočišné tkáni

Uhlík

Stabilní izotopy uhlíku jsou analyzovány z rostlinné tkáně od padesátých let. V 60. letech byla objevena fotosyntéza C4 (také zvaná Hatch – Slackova) – trávy – jednoděložné rostliny. V letech 1968 a 1971 byl objeven rozdíl mezi obsahem C13 v rostlinách užívajících C4 a C3 fotosyntézu (C3 fotosyntéza je také nazvána Calvinova-Bensonova fotosyntéza – dvouděložné rostliny). Rostliny závislé na fotosyntéze C4 přijímají méně těžšího izotopu C13 v průběhu odběru CO₂ z atmosféry. Tedy pozorujeme u nich méně negativní hodnoty delta C13 než u rostlin s fotosyntézou C3. Třetím typem fotosyntézy je metabolismus kyseliny krasulaceové (CAM) který nacházíme u kaktusů a sukulentů a u nich jsou hodnoty delta C13 mezi hodnotami rostlin C4 a C3.

Vztah mezi hladinou stabilních izotopů C u zvířat jejich složením stravy také existuje. Byla prokázána frakcionalizace asi 5 promile mezi stravou a obsahem stabilních izotopů C v kostním kolagenu. Dále můžeme pozorovat 1 promile rozdílu mezi býložravci a masožravci. Pokud tedy u člověka známe hodnoty izotopů C v různých složkách potravy, frakcionalizační faktory mezi stravou a kolagenem a známe hladinu delta C13 v lidském kostním kolagenu, můžeme rekonstruovat dietu prehistorických populací. Schoeninger se pokusil rekonstruovat stravu ze dvou lokalit jednu z USA Pecos Pueblo a dánské velrybáře na Špicberkách. Napřed se pokusil sestavit jídelníček podle paleobotanických a paleozoologických analýz a zjistil jeho kalorickou hodnotu a hodnoty delta C13. Tyto hodnoty potom porovnal s hodnotami delta C13 v kostním kolagenu u člověka. Prokázal že jídelníček u pueblanů byl složen z rostlinné i živočišné složky patrně kukuřice a zvířat, které konzumovaly rostliny obou fotosyntetických typů. Dále lze podle izotopových hodnot v kostním kolagenu rozlišit při rekonstrukci stravy využít obsah tuků, bílkovin.

Dusík

Dusík si berou rostliny z půdy a některé rostliny berou dusík také ze vzduchu. Protože delta N15 je ve vzduchu asi 0 promile a delta N15 v půdě je asi 10 promile, rostliny které využívají atmosferický dusík, mají nižší hodnoty delta N15 než rostliny, které si berou dusík z půdy. Býložravci potom mají o 3 promile více delta N15 než rostliny, které konzumují. Býložravci, kteří jedí luštěniny mají nižší hladiny delta N15 než ti kteří se živí především jinými rostlinami. Masožravci se zase liší o +3 promile od býložravců. Izotopy dusíku jsou při rekonstrukci potravy užívány ke zjišťování množství bílkovin přijímaných v potravě, protože dusík se do kostního kolagenu člověka dostává právě s bílkovin.

Využití poměrů izotopů v historické antropologii

Kolagen

Kost je složena z organické hmoty, která je z kolagenních vláken a dalších složek, které znáte. Suchá kost, tedy historická kost je složena ze 70% anorganických látek a 30% organických látek a 85 – 90% těchto organických látek tvoří kolagen. A právě z kolagenu se izolují stabilní izotopy. Kolagen je velmi trvanlivý, protože byl objeven v kostech zvířat datovaných až do devonu. Různé diagenetické výzkumy ukázaly, že i když minerální složka kosti podléhá rozsáhlým změnám v zemi, kolagen – pokud se zachová – zůstává relativně nezměněný prostředím v zemi. Kolagen je strukturální bílkovina která je velmi pevná a proto jsou z ní v těle tvořeny vazy, šlach a nachází se také v kostní tkáni, chrupkách a kůži nebo cévách. Má strukturu trojitě šroubovice, která v každém řetězci obsahuje asi 1000 aminokyselin. Každá třetí aminokyselina je glycin, proto třetina všech aminokyselin je glycin. Další unikátní vlastností kolagenu je, že se v něm nacházejí dvě aminokyseliny hydroxyprolin a hydroxylysin. Obsah aminokyselin v kolagenu je velmi důležitý a umožňuje ho odlišit při analýze kosterního materiálu od ostatních látek, které kost obsahuje. Největším nepřítelem kolagenu jsou humnové kyseliny, které ho degradují.