

骨の加熱による化学組成と結晶構造の変化 Chemical and structural changes of bones by heating

椋本ひかり^{1*}・南 雅代²・中村俊夫²
Hikari Mukumoto^{1*}, Masayo Minami², Toshio Nakamura²

¹名古屋大学大学院環境学研究科・²名古屋大学宇宙地球環境研究所

¹Graduate school of Environmental Studies, Nagoya University, Chikusa, Nagoya 464-8601, Japan.

²Institute for Space-Earth Environmental Research, Nagoya University, Chikusa, Nagoya 464-8601, Japan.

*Correspondence author. E-mail: mukumoto.hikari@j.mbox.nagoya-u.ac.jp

Abstract

Carbonate hydroxyapatite (CHa) in bone, which is a bone inorganic component, is beginning to be used for ¹⁴C dating on cremated bones, because the bones suffering from heat at the temperature of more than 600°C have high crystalline of apatite and are not easily contaminated by exogenous carbon. However, it remains a possibility that a part of carbon in CHa could be exchanged by exogenous carbon derived from fuel and/or atmosphere during heating. It is important, therefore, to reveal the origin of carbon in CHa for reliable ¹⁴C dating using CHa. The purpose of this study is to estimate the presence or absence of the possibility of capture of exogenous carbon into CHa during heating by investigating of changes of chemical composition and crystal structure of bones during heating. We conducted a heating experiment using two modern fresh boar bones. The F¹⁴C values of bone CHa did not change by heating, even when heating under atmosphere, while the δ¹³C values changed a little: decreased slightly with increasing heating temperature from 300°C to 750°C, and increased significantly at 900°C. The former decrease could be due to decomposition of carbonate with lower δ¹³C during heating, while the latter increase could be due to carbon isotopic fractionation and/or take-up of exogenous carbon. The results suggest the possibility of exchange of CHa carbon with carbon in fuel and/or atmosphere during heating.

Keywords: ¹⁴C dating; cremated bone; carbonate hydroxyapatite

1. はじめに

骨は炭素を含み、¹⁴C年代測定の対象となる。遺跡から出土した骨の¹⁴C年代を測ることで、その人が生きていた年代や遺跡の年代を明らかにすることができる。骨の¹⁴C年代測定には、化学的風化作用に比較的強い有機成分の硬タンパク質コラーゲンを用いるのが一般的である。しかし、コラーゲンは加熱により容易に分解するため、火葬された骨に、コラーゲンを用いた¹⁴C年代測定を行うことは不可能である。火葬は、東アジアやヨーロッパの各所で古くから普及する埋葬法の一つであり、遺跡や墓所などから、火葬された骨が出土することは少なくない。このような火葬骨に対しても¹⁴C年代測定を可能にすることは、考古学・人類学などの分野で非常に重要である。

近年、加熱によりコラーゲンが損失した骨の年代測定を行うため、骨の無機成分に含まれる炭素を利用する試みがなされている (e.g. Lanting *et al.*, 2001)。骨の無機成分の大部分はヒドロキシアパタイト [Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂] が部分的に炭酸基と置換した炭酸ヒドロキシアパタイト (CHa: carbonate hydroxyapatite) である。生骨の CHa は低結晶性であるため、骨が土壌に埋没している間に、周辺の外来炭素と容易に同位体交換を起こすが、高温 (600°C以上) で火葬された骨は、結晶性が高ま

り、外来炭素の影響を受けにくくなると考えられる (Lanting *et al.*, 2001)。実際に、Lanting *et al.* (2001) は、様々な遺跡から採取された火葬骨の ^{14}C 年代測定を行い、CHa から信頼できる ^{14}C 年代値を得ることが可能であると報告した。椋本ほか(2015)も、年代既知の火葬骨に対して CHa による ^{14}C 年代測定を行い、酢酸処理を行って二次的な炭酸塩等の外来炭素を適切に除去すれば、骨 CHa から真の年代を得ることが可能であると報告した。以上の結果は、高温で火葬された骨に対しては、CHa を用いた ^{14}C 年代測定が有効であることを示している。

一方で、一般的な生骨 CHa の $\delta^{13}\text{C}$ 値が $-15 \pm 2\%$ であるのに対し、火葬された骨の CHa の $\delta^{13}\text{C}$ 値は $-24 \pm 3\%$ まで低くなるという報告があり (Lanting *et al.*, 2001)、加熱の際に何らかの炭素の取り込みが生じていることも考えられる。実際、火葬に利用される燃料 (木材など) に含まれる炭素が、加熱時に骨に取り込まれる可能性も指摘されている (e.g. Van Strydonck *et al.*, 2010; Snoeck *et al.*, 2014)。燃料炭素の取り込みがあった場合、燃料と骨試料の ^{14}C 年代に差があれば、骨 CHa から真の ^{14}C 年代を得ることはできない。そのため、燃料由来の炭素の取り込みの有無を知ることは、得られた ^{14}C 年代の信頼性を議論するうえで重要である。本研究の目的は、1) 骨が火葬される際に外来炭素を取り込むメカニズムを解明すること、2) 外来炭素の取り込みの有無を定量的に評価し、 ^{14}C 年代測定への影響を検討することである。本稿では、研究の第一段階として、燃料を使用せず現生骨をいくつかの異なる温度で熱することにより、加熱による骨の化学組成 (C・N 濃度、 F^{14}C 、 $\delta^{13}\text{C}$) や結晶構造の変化を観察した結果を紹介する。

2. 試料と方法

現生の骨試料として、2007 年に熊本県天草市御所浦町で自然死したイノシシの骨と、愛知県豊田市小手沢で自然死したイノシシ骨を用いた。試料はすべてデンタルドリルで表面を除去した。その後、切り分けて、それぞれ 300°C 、 450°C 、 600°C 、 750°C 、 900°C で 1.5 時間、御所浦のイノシシ骨は管状炉を、小手沢のイノシシ骨はマッフル炉を使用して加熱後、メノウ乳鉢を用いて粉碎した。

粉碎した試料は、元素分析計を用いて加熱による骨の炭素・窒素含有量の変化を観察し、フーリエ変換型赤外分光分析計 (FT-IR) と粉末 X 線回折分析計 (XRD) により、加熱による骨の結晶性や結晶構造の変化を観察した。

また、粉碎した試料を Balter *et al.* (2002) を参考にし、試料 1 g と 0.1M 酢酸を真空下で 1 時間反応させることにより、酸リーチングを行い、発生した CO_2 を回収した。酢酸処理後の試料を 85% リン酸と一晚反応させ、骨 CHa を酸分解し、発生した CO_2 を回収した。酢酸処理により回収した CO_2 とリン酸分解により回収した CO_2 の一部は、水素で 620°C にて 1 時間還元し、グラファイトを作成した。その際に鉄粉末を触媒として用いた。得られたグラファイトをアルミニウム製の試料ホルダーに圧縮封入し、名古屋大学宇宙地球環境研究所年代測定研究部のタンデトロン加速器質量分析計 (HVVE) によって ^{14}C 濃度 (F^{14}C) の測定を行った。残りの CO_2 を用いて、安定同位体比質量分析計 (Finnigan MAT-252) により炭素安定同位体比 ($\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}}$) を測定した。

3. 結果と考察

3.1. 骨の有機成分と無機成分の変化

イノシシ骨は、 600°C 以上の加熱により、炭素と窒素の含有量がほぼ 0% になり、骨質量が 30–38% 減少した (図 1)。炭素や窒素は骨の有機成分を構成する主要元素であり、一般に骨は乾燥重量の約 35% が有機成分で、65% が無機成分で占められることから (石村ほか, 2003)、 600°C 以上の加熱で、骨の有機成分がほとんどすべて燃焼し、損失していることがわかる。このことは、 600°C 以上の温度で加熱された骨には、骨の有機物 (アミド I) の存在を示す $1700\text{--}1600\text{ cm}^{-1}$ 付近の IR スペクトルが消失している結果とも一致している (図 2)。

一方、XRD の結果から、600°C以上の加熱温度で骨の無機成分にも大きな変化が生じることが分かった(図3)。300-600°Cの加熱温度では、イノシシ骨の XRD パターンは幅広いピークを示すが、750°Cと 900°Cで加熱されたイノシシ骨の XRD パターンは鉱物のヒドロキシアパタイトの XRD パターンに似た鋭いピークを示した。この結果は、600°C以上の加熱温度で骨 CHa の結晶性が急激に高まることを示している。750°C以上で加熱された骨試料の炭素含有量は 600°Cで加熱された骨試料の炭素含有量と比べ 70%以上減少しており、600-750°Cの加熱温度で CHa に含まれる炭酸塩の分解が急速に進むことが考えられる。炭酸基はリン酸基や水酸基とはイオン半径が異なるため、CHa の結晶性を低下させる要因となる (Zazzo *et al.*, 2011)。以上のことから、600°C以上の加熱温度では炭酸基の分解が進んだため、CHa の結晶性が高まったと考えられる。

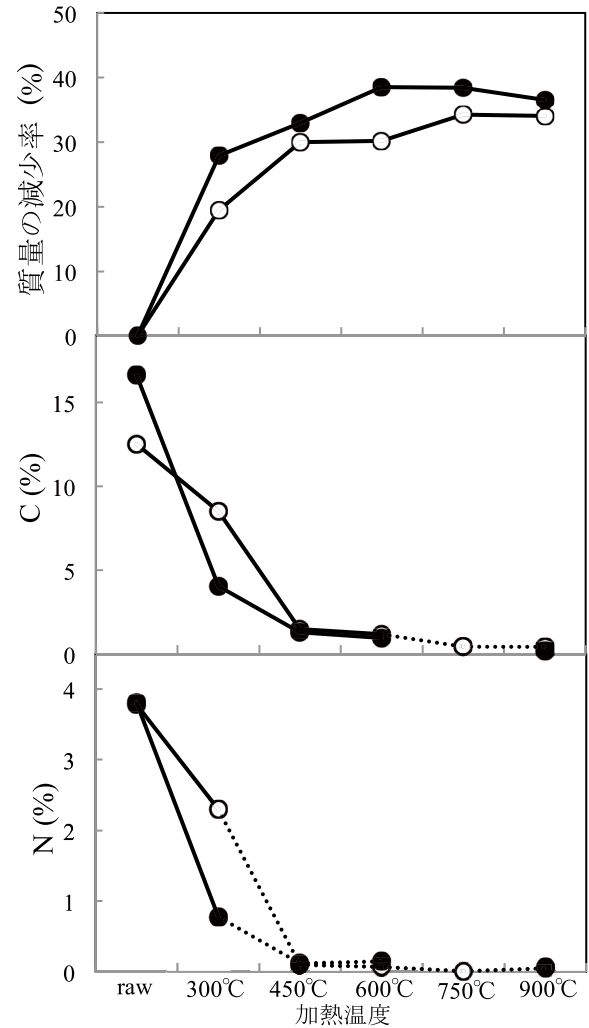
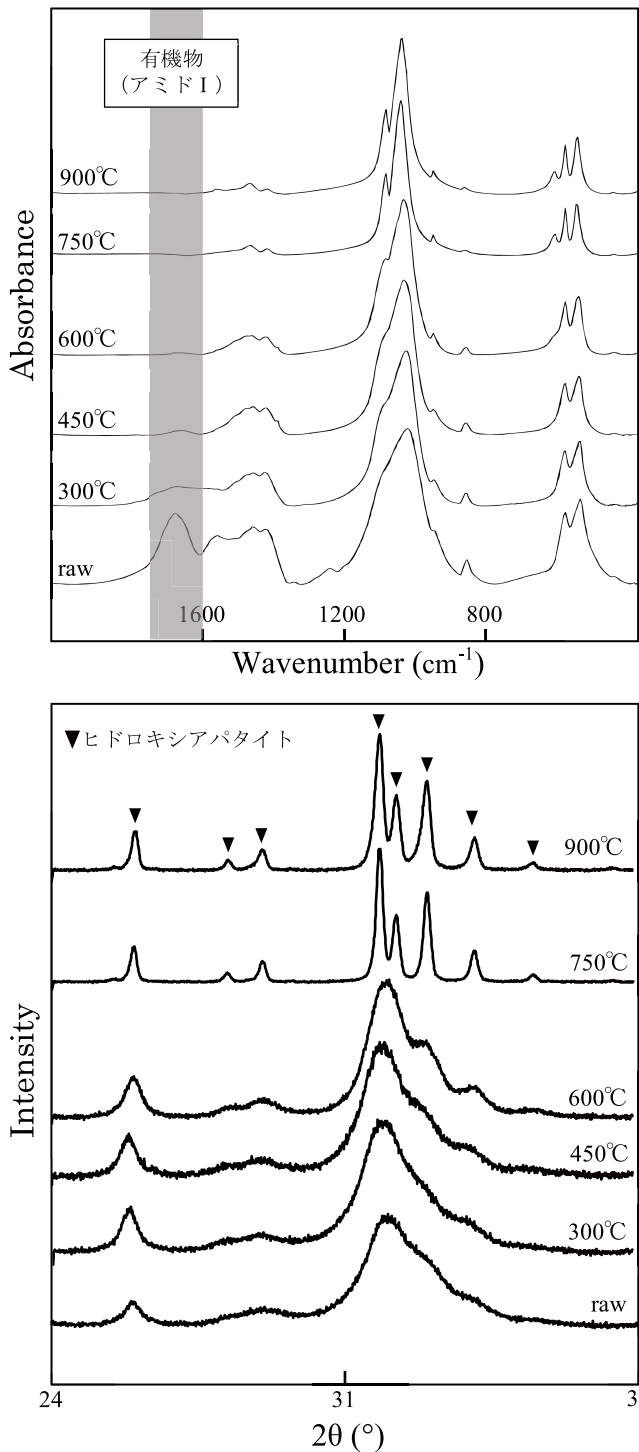


図1 (上). 各試料の加熱温度の上昇に伴う炭素・窒素含有量と質量の減少率の変化
○：小手沢イノシシ骨
●：御所浦イノシシ骨を示す。

図2 (左上). 小手沢イノシシ骨の IR スペクトル

図3 (左). 小手沢イノシシ骨の XRD パターン

3.2. 骨 CHa の $\delta^{13}\text{C}$ と F^{14}C の変化

御所浦と小手沢イノシシ骨の $\delta^{13}\text{C}$ ・ F^{14}C 結果を表 1 に示す。骨 CHa の $\delta^{13}\text{C}$ 値は、加熱温度が 300°C から 750°C まで上昇するにつれてわずかに減少する傾向が見られ、加熱していない骨 CHa の値に比べ 750°C で加熱した骨 CHa の $\delta^{13}\text{C}$ 値は、小手沢イノシシ骨では 1.7‰、御所浦イノシシ骨では 1.2‰ 低くなった (図 4)。この理由として、750°C までの加熱温度では、高い $\delta^{13}\text{C}$ 値を持つ炭酸塩が優先的に分解している可能性が考えられる。また、900°C で加熱した骨 CHa の $\delta^{13}\text{C}$ 値は御所浦と小手沢イノシシ骨どちらにおいても最も高い値を示し、加熱していない骨 CHa の値よりも、小手沢イノシシ骨では 0.8‰、御所浦イノシシ骨では 2.1‰ 高くなった (図 4)。この $\delta^{13}\text{C}$ 値の上昇として、900°C という高温加熱により、急激に CHa 中炭酸塩が分解することによって生じる同位体分別効果、もしくは、大気中のわずかな炭素の取り込みが考えられる。しかし、今回の実験では、試料によって炭素の回収率が大きく異なった (最大 90%) ため、これらの 1-2‰ ほどの変化が、加熱によるものか、各々のわずかな実験条件の違いによるものかを区別するのは難しく、今後のさらなる加熱実験や分析が必要である。いずれにせよ、Lanting *et al.* (2001) で報告されている火葬された骨 CHa の低い $\delta^{13}\text{C}$ 値 ($-24 \pm 3\text{‰}$) は、今回の実験ではどの温度で加熱された骨にも観察されなかった。このことから、骨を大気存在下で加熱することが、骨 CHa の $\delta^{13}\text{C}$ 値を大きく減少させる要因にはならないことが明らかとなり、先行研究で報告されている低い $\delta^{13}\text{C}$ 値は、骨 CHa が火葬時に使用される木材などの燃料中炭素の影響を受けたことを示していると考えられる。

骨 CHa の F^{14}C は、御所浦と小手沢いずれのイノシシ骨においても加熱温度による違いは見られず、大気存在下での骨の加熱は骨 CHa の F^{14}C 値に影響を及ぼさないことが分かった (図 5)。酢酸処理時に回収した CO_2 の F^{14}C 値は、御所浦のイノシシ骨では 600°C で、小手沢のイノシシ骨では 750°C で加熱した試料が低くなり、大気 CO_2 の F^{14}C 値 (1.02 : 加藤ほか, 2014) に近い値を示した (図 5)。この理由として、CHa 中の炭酸塩が加熱により分解されると、結晶中に酸化カルシウムを形成するため (Lindars *et al.*, 2001)、骨を加熱した後に、酸化カルシウムが空気中の CO_2 と反応し炭酸カルシウムを形成したことが考えられる。骨 CHa の F^{14}C 値には大気の影響が見られないことから、この二次的な炭酸カルシウムは酢酸処理により除去でき、 ^{14}C 年代測定に影響を及ぼすものではないと考えられる。

表 1. 酢酸処理時に回収した炭素とリン酸分解により回収した CHa 中炭素の $\delta^{13}\text{C}$ 値と F^{14}C 値

| 試料 | 加熱温度 | C 回収率 ¹⁾ (wt%) | | $\delta^{13}\text{C}$ ²⁾ (‰) | | F^{14}C ³⁾ | | | |
|--------------|-------|---------------------------|------|---|-------|---------------------------------------|----------|-------------|----------|
| | | 酢酸 | CHa | 酢酸 | CHa | 酢酸 | (NUTA2-) | CHa | (NUTA2-) |
| 小手沢 イノシシ骨 | raw | 0.23 | 0.60 | -14.3 | -18.6 | 1.058±0.003 | 22784 | 1.087±0.003 | 22786 |
| | 300°C | — | 1.02 | — | -19.3 | — | — | 1.097±0.003 | 22787 |
| | 450°C | 0.31 | 0.96 | -14.1 | -18.9 | 1.054±0.003 | 22785 | 1.101±0.003 | 22788 |
| | 600°C | 0.26 | 0.77 | -15.6 | -19.7 | 1.058±0.008 | 22752 | 1.102±0.003 | 22791 |
| | 750°C | 0.10 | 0.26 | -15.1 | -20.3 | 1.036±0.006 | 22753 | 1.101±0.006 | 22755 |
| | 900°C | 0.11 | 0.29 | -13.0 | -17.8 | — | — | 1.100±0.005 | 22756 |
| 御所浦 イノシシ骨 | raw | 0.16 | 0.42 | -14.1 | -17.1 | 1.054±0.003 | 23672 | 1.082±0.004 | 23676 |
| | 300°C | 0.17 | 1.02 | -15.5 | -16.9 | 1.060±0.003 | 23673 | 1.095±0.004 | 23679 |
| | 450°C | 0.23 | 0.79 | -14 | -17.4 | 1.042±0.003 | 23674 | 1.086±0.004 | 23680 |
| | 600°C | 0.19 | 0.49 | -13.4 | -18.9 | 1.025±0.003 | 23675 | 1.081±0.004 | 23681 |
| | 750°C | 0.05 | 0.24 | -14.2 | -18.3 | — | — | 1.095±0.004 | 23647 |
| | 900°C | 0.03 | 0.12 | -12.3 | -15 | — | — | 1.089±0.004 | 23648 |

1) 炭素の回収率は、酢酸処理とリン酸分解で回収した炭素の重量を、それぞれで使用した試料の重量で割ることによって求めた。

2) 誤差：±0.1‰

3) 誤差：±1σ

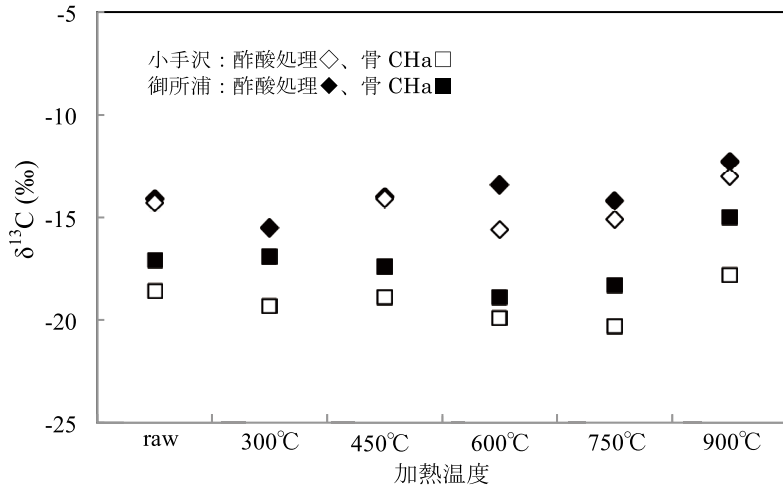


図 4. イノシシ骨試料の加熱温度に伴う $\delta^{13}\text{C}$ 値の変化
 小手沢イノシシ骨を酢酸処理して回収した C を白い菱形 (◇)、CHa 中 C を白い四角 (□)、
 御所浦イノシシ骨を酢酸処理して回収した C を黒い菱形 (◆)、CHa 中 C を黒い四角 (■) で示す。

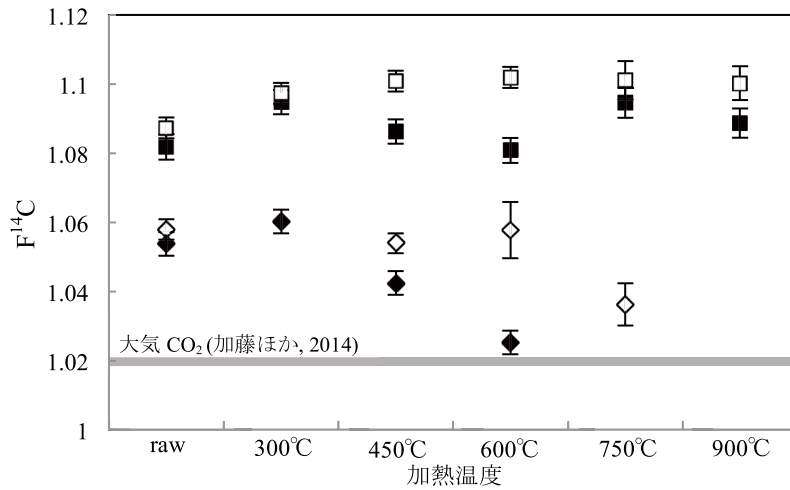


図 5. イノシシ骨試料の加熱温度に伴う $F^{14}\text{C}$ 値の変化
 小手沢イノシシ骨を酢酸処理して回収した C を白い菱形 (◇)、CHa 中 C を白い四角 (□)、
 御所浦イノシシ骨を酢酸処理して回収した C を黒い菱形 (◆)、CHa 中 C を黒い四角 (■) で示す。

4. まとめ

現生イノシシ骨の加熱実験より、600°C以上の加熱温度では、骨の有機成分はほとんど消失し、無機成分である CHa の炭酸塩も分解し、結晶性が高まるという結果が得られた。

骨 CHa の ^{14}C 濃度の加熱温度の違いによる変化は見られなかったが、 $\delta^{13}\text{C}$ 値は 300–750°C の加熱温度で減少し、900°C で上昇した。しかしそれは 1–2‰ の変化であり、Lanting *et al.* (2001) が報告している、火葬された骨の CHa に見られた低い $\delta^{13}\text{C}$ 値 ($-24 \pm 3\%$) は今回の実験では得られなかった。これらの結果から、骨を大気存在下で加熱することが、骨 CHa の $\delta^{13}\text{C}$ 値を減少させる要因にはならないこと、つまり、大気中の炭素の取り込みはないこと、 ^{14}C 年代測定には影響しないことが明らかとなった。また、600°C 以上の加熱温度では骨 CHa の結晶中に酸化カルシウムが形成され、加熱後、大気中の CO_2 と反応し、炭酸カルシウムを形成することが考えられる。しかし、効果的な酢酸処理を行うことによりこの炭酸カルシウムは除去できるので、 ^{14}C 年代測定に影響を及ぼさないことが明らかになった。今後、 $\delta^{13}\text{C}$ 値や $F^{14}\text{C}$ 値をコントロールした CO_2 を含む人工大気存在下で、同様の骨の加熱実験を行い、今回の結果と比較する予定である。

謝辞

元素分析計による炭素・窒素測定は、名古屋大学大学院環境学研究科の三村耕一准教授に、また、FT-IR 分析は東京大学大学院理学系研究科の鍵 裕之教授にお世話になりました。本研究は、日本学術振興会科学研究費補助金 挑戦的萌芽研究「骨の炭酸ヒドロキシアパタイトを用いた炭素 14 年代測定の試み」(代表者：南 雅代、課題番号：26560144) の助成を受けて行なわれました。ここに記して、感謝の意を申し上げます。

引用文献

- Balter, V., Saliège, J.-F., Bocherens, H., Person, A. (2002) Evidence of physico-chemical and isotopic modifications in archaeological bones during controlled acid etching. *Archaeometry* 44, 329-336.
- 石坂和敬・井上貴央 (2003) 最新カラー組織学, 西村書店, 117-118.
- 加藤ともみ・南 雅代・堀川恵司・中村俊夫 (2014) 静岡県竜ヶ岩洞内の地下水の ^{14}C および $\delta^{13}\text{C}$. 名古屋大学加速器質量分析計業績報告書, XXV, 84-96.
- Lanting, J.N., Aerts-Bijma, A.T., van der Plicht, J. (2001) Dating of cremated bone. *Radiocarbon* 43, 249-254.
- Lindars, E.S., Grimes, S.T., Matthey, D.P., Collinson, M.E., Hooker, J.J., Jones, T.P. (2001) Phosphate $\delta^{18}\text{O}$ determination of modern rodent teeth by direct laser fluorination: An appraisal of methodology and potential application to palaeoclimate reconstruction. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 65(15), 2535-2548.
- 棕本ひかり・南 雅代・中村俊夫 (2015) 火葬骨の炭酸ヒドロキシアパタイトを用いた ^{14}C 年代測定の試み. 名古屋大学加速器質量分析計業績報告書, XXVI, 96-101.
- Snoeck, C., Brock, F., Schulting, R.J. (2014) Carbon exchanges between bone apatite and fuels during cremation: Impact on radiocarbon dates. *Radiocarbon* 56(2), 591-602.
- Van strydonck, M., Boudin, M., De Mulder, G. (2010) The carbon origin of structural carbonate in bone apatite of cremated bones. *Radiocarbon* 52(2-3), 578-586.
- Zazzo, A., Saliège, J.-F. (2011) Radiocarbon dating of biological apatite: A review. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 310, 52-61.

日本語要旨

火葬されて有機成分が残存していない骨に対し、骨の無機成分である炭酸ヒドロキシアパタイト (CHa) を用いた ^{14}C 年代測定が有効と考えられる。しかし、遺跡などから出土する火葬骨 CHa の $\delta^{13}\text{C}$ 値が低いという報告があり、火葬中に外来炭素を取り込んだ可能性も考えられる。そのため、加熱による骨の結晶構造や化学組成の変化を調べ、外来炭素の取り込みがないかを明らかにすることが、火葬骨 CHa の ^{14}C 年代の信頼性を議論する上で重要となる。本研究では、現生のイノシシ骨の加熱実験を行い、加熱による骨の結晶構造や化学組成の変化を調べた。その結果、大気存在下での加熱でも、骨 CHa の ^{14}C 濃度に変化は見られなかったが、 $\delta^{13}\text{C}$ 値は 750°C まで加熱温度が高くなるにつれ減少し、 900°C では増加した。しかし、その変化は 1-2% であり、Lanting *et al.* (2001) によって報告されている低い $\delta^{13}\text{C}$ 値 ($-24 \pm 3\%$) は今回の加熱実験では得られなかった。以上の結果から、骨を大気存在下で加熱することが、骨 CHa の $\delta^{13}\text{C}$ 値を減少させる要因ではないこと、 ^{14}C 年代測定には影響しないことが明らかとなった。今後さらなる加熱実験を行い、骨 CHa への燃料中炭素の取り込みの有無について調べる予定である。