

# 愛媛県西宇和郡三崎町名取梶谷鼻沖で採取された ナウマン象の臼歯の AMS $^{14}\text{C}$ 年代

中村俊夫<sup>1)</sup>・太田友子<sup>1)</sup>・宮本雅三<sup>2)</sup>・南 雅代<sup>1)</sup>・小田寛貴<sup>1)</sup>・池田晃子<sup>1)</sup>

- 1) 名古屋大学年代測定資料研究センター  
464-8602 名古屋市千種区不老町  
Tel:052-789-2578, Fax:052-789-3095
- 2) 愛媛県西宇和郡保内町教育委員会社会教育科  
796-02 愛媛県西宇和郡保内町宮内 1-260  
TeL:0894-36-1111, ext.320, Fax:0894-36-3325

キーワード：哺乳類化石，ナウマン象，臼歯化石，コラーゲン，加速器質量分析， $^{14}\text{C}$  年代

## 1. はじめに

従来、考古遺跡から発掘される古人骨や獣骨について直接、放射性炭素 ( $^{14}\text{C}$ ) 年代測定を行うことは、ほとんど現実的ではなかったと考えられていた。特に、年代がかなり古いと思われるナウマン象やマンモス象の臼歯、切歯、骨などの試料については、氷浸けの環境が化石の保存に適していたため異常に多量に出土するシベリアのマンモスの化石 (Vasil'chuk et al, 1997) を除くと、ほとんど年代測定の例はなかった。しかし、1980 年代になって、測定に必要な炭素試料が数ミリグラムと少量ですむ加速器質量分析法が実用化され、化石試料の直接測定が現実的なものとなった。日本では、日本海山陰沖海底産の哺乳類化石や野尻湖湖底堆積物から採取されたナウマン象、オオツノシカなどの臼歯や切歯そのものについて、名古屋大学の加速器質量分析計による  $^{14}\text{C}$  年代測定が行われ新知見が得られている (秋山ほか、1988、1989；有田ほか、1990；秋山ほか、1992；沢田ほか、1992)。

1960 年ころ愛媛県西宇和郡三崎町名取梶谷鼻沖で採取され、永く同地の資料館に保管されていたナウマン象臼歯化石について、この度、名古屋大学に設置されているタンデム加速器質量分析計を用いて  $^{14}\text{C}$  年代測定を行った。その結果をここに報告する。

## 2. 試料

ナウマン象の化石は広く日本全土で発見されているが、特に山陰沖、瀬戸内海、東京一茨城低地帯で数が多い（高橋，1991）。本研究に用いたナウマン象臼歯は、四国西端三崎半島の南に位置する宇和海で採取された物である（図1）。この試料の由来を表1に示す。1960年ころ、タイ網漁に用いられていた網にかかって採取されたものである。

表1 今回  $^{14}\text{C}$  年代測定を実施したナウマン象の臼歯化石の由来

項目	記 事
採取場所	宇和海「愛媛県西宇和郡三崎町名取 梶谷鼻沖」（正確な場所は不明）
採取年次	1960（昭和35）年ころ
採取者	浜藤一重「愛媛県西宇和郡保内町川之石」
採取方法	タイ網漁法

ナウマン象臼歯試料の外観は、全体的に白っぽく、はっきりと確認されるエナメル質の層が黒光していた（写真1）。臼歯化石から、エナメル質で囲まれる薄板状の小破片から年代測定用の試料を採取した。

## 3. 実験

骨、臼歯や切歯などの試料の  $^{14}\text{C}$  年代測定には、これらの試料に含まれる硬タンパク質であるコラーゲンが用いられる。骨などを構成する無機成分であるハイドロキシアパタイトや炭酸カルシウムなどは、骨などの組織から抜け落ちたり、外部の炭素との交換が起き易く、コラーゲンの方がより安定しているとされている。

今回のナウマン象臼歯化石は表面がでこぼこし、脆くなっており、かなり変質を受けているように見えた。これらの試料から以下のようにしてコラーゲンを抽出した。

試料の表面の汚れをカッターナイフを用いて削り取った。次に、蒸留水を用いて、水が濁らなくなるまで超音波洗浄を繰り返して不純物を除去した。さらに、0.2 規定の水酸化ナトリウム水溶液に入れて超音波洗浄を行って、アルカリ水溶液に可溶性の不純物を除去した。蒸留水で洗浄の後、試料を凍結乾燥し、ステンレス乳鉢で粉碎した。

試料はかなり古く、変質してコラーゲンが抜け落ちている可能性が高かったため、表2に示すように、前処理を終えた粉末試料から 3.75 mg および 4.91mg を分取して同時に並列して、図2に示される操作によりコラーゲン抽出を行った。一端をクリップで封じた長さ約 15 cm のセルロースチューブに粉末試料を入れ、蒸留水を用いて完全に流し込み、他端をクリップで閉じた。これを、1.2 規定規定の塩酸を満たした 500 ml のビーカーに入れ、マグネティックステアラーで攪拌しながら冷蔵庫内で約 4℃ に一晩保っておいた。こうして、4℃ の雰囲気の中で骨などの無機成分を塩酸を用いて分解した。

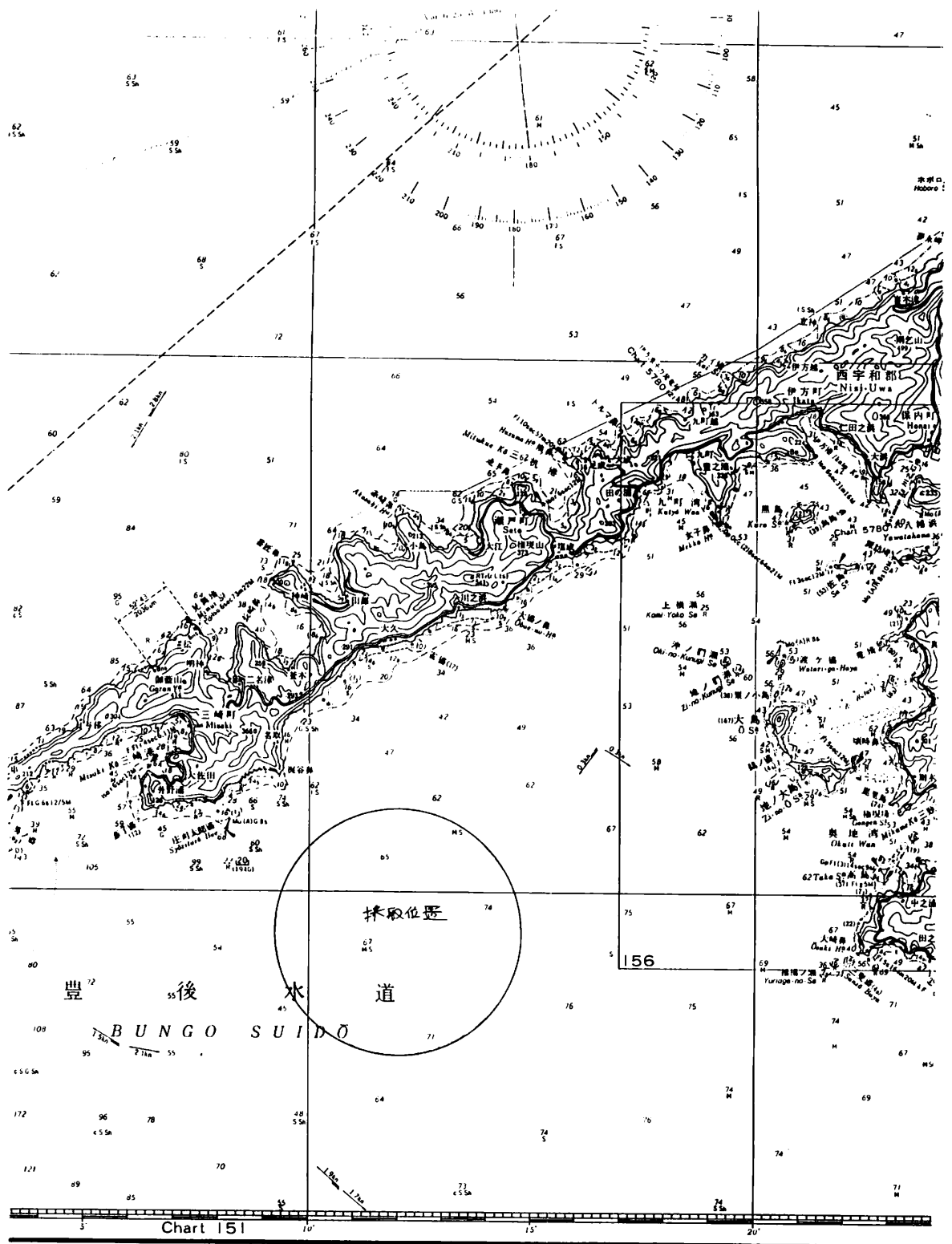


図1 愛媛県南部宇和海において、タイ網漁によりナウマン象白歯化石試料が採取されたおおよその地点

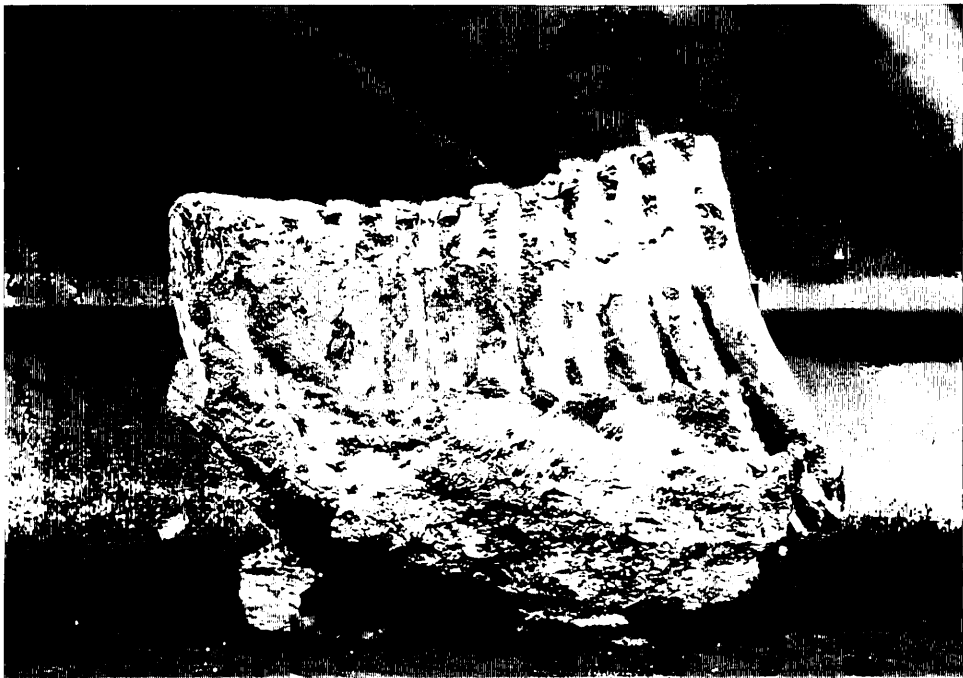


写真 1 ナウマン象臼歯化石試料の写真

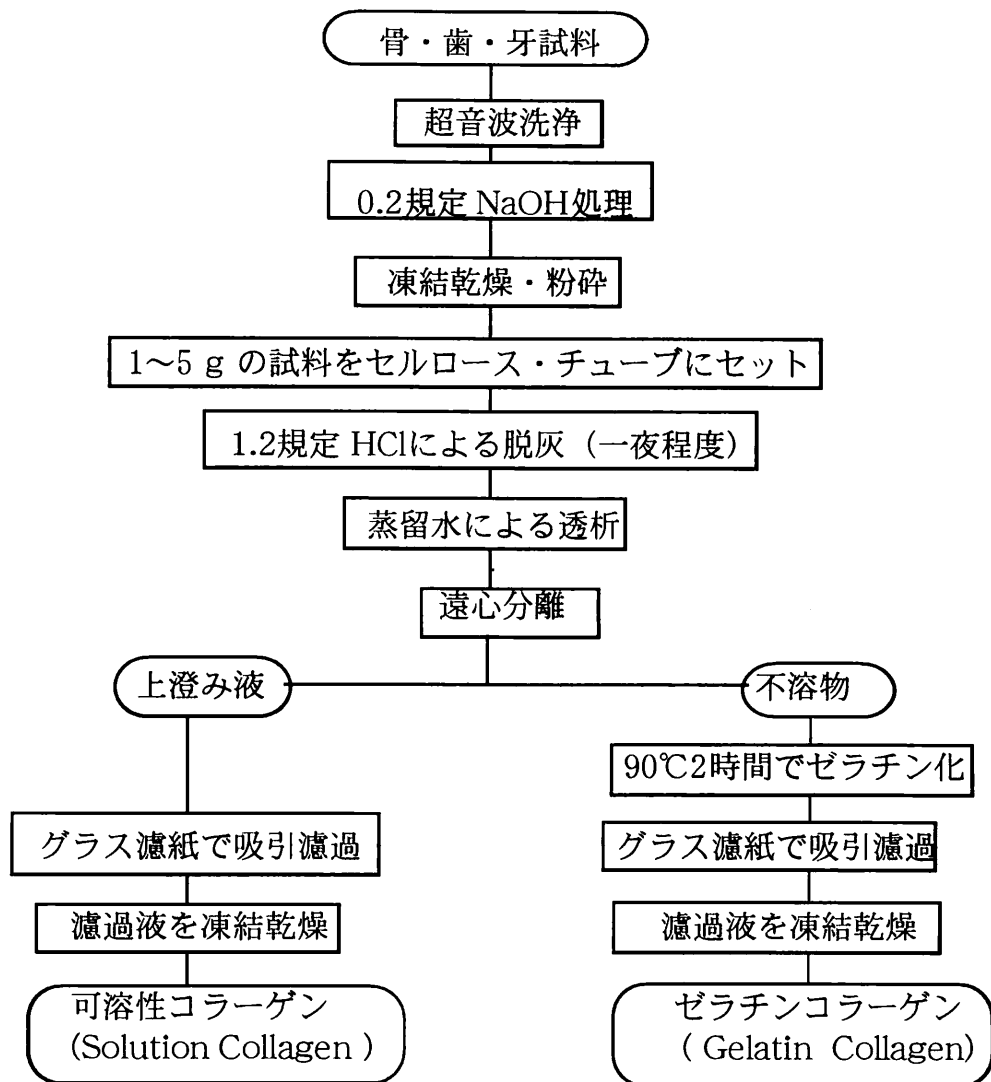


図2 白歯試料からコラーゲンを抽出する操作プロセス

翌日にピーカーの塩酸溶液を捨て、蒸留水を入れて冷蔵庫内で攪拌し、セルロース内の塩酸を透析して除去した。1時間おきに5～6回蒸留水を交換したあと、一晚冷蔵庫内に放置し、翌日さらに蒸留水を交換して塩酸を完全に透析して除去した。透析の完了は、溶液のpHが6～7となることから確認した。

塩酸による脱灰処理を終えたあと、セルロースチューブには、塩酸や水に可溶性コラーゲンとそれらに不溶性コラーゲンの2種類が存在している。そこで、セルロースチューブの内容物を遠心分離して、2種類のコラーゲンを分離した。可溶性成分については、遠心分離した上澄み液を吸引濾過して回収し、これを凍結乾燥して可溶性コラーゲンを得た。一方、不溶性成分については、ヒューミン、フンミ酸、灰分などの不純物が混入しているので、ゼラチン化によりコラーゲンを精製した。すなわち、遠心分離で得た残留固形分をフタ付きの試験管に移し、蒸留水を約20 ml 加え、90℃で10時間加熱すると、コラーゲンはゼラチン化して水に溶解する。試験管内の溶液を吸引濾過して回収し、凍結乾燥してゼラチンコラーゲンを得た。得られた可溶性コラーゲンおよびゼラチンコラーゲンの収量、含有率を表2に示す。

表2 ナウマン象臼歯試料から回収されたゼラチン及び可溶性コラーゲンの量の比較

項目	試料の量 (g)	ゼラチンコラーゲンの収量(g) (含有率:%)	可溶性コラーゲンの収量(g) (含有率:%)
第1回目抽出	3.75463	0.04582 (1.22%)	0.03765 (1.00%)
第2回目抽出	4.91387	0.05973 (1.22%)	0.09327 (1.90%)
合計	8.66850	0.10555 (1.22%)	0.13092 (1.51%)

一般に、新鮮な骨から抽出したコラーゲンでは、ゼラチンコラーゲンの方が、可溶性コラーゲンに比べて含有率が高く、年代が古くなるにつれて、可溶性コラーゲンの割合が増加する傾向にある。従って、ゼラチンコラーゲンの方が、骨などの試料に元来含まれていたコラーゲンに近いものと考えられ、<sup>14</sup>C測定にも優先的に用いられる(中村・中井、1993)。本試料については、ゼラチンコラーゲン及び可溶性コラーゲンの双方が十分に得られたので、比較のために、両者について別々に年代測定を実施した。

直径6mmで長さ10cmのバイコール管に線状酸化銅を約1gおよび1cm長程度に切った銀の細線を3～5本入れ、さらにコラーゲン試料を入れた。直径9mmのバイコール管に線状還元銅を約500mg入れた後、コラーゲン試料の入ったバイコール管を入れ、真空装置に接続して排気し、封管した。これを電気炉内で950℃にて約1時間加熱し、その後ゆっくりと冷却して、コラーゲン中の炭素を酸化して二酸化炭素に変えた。真空ライン内で、液体窒素、エタノールと液体窒素混合物(-100℃)を冷媒として用いて二酸化炭素を精製した。コラーゲンから二酸化炭素として回収された炭

素の量を比較して、表3に示す。この二酸化炭素の一部を分取し、鉄触媒のもとで水素で還元してグラファイト化した（北川ほか、1992；Kitagawa et al., 1993）。次に、グラファイトを乾燥したのち、アルミニウム製の試料台に入れて圧縮してターゲットを作り、加速器質量分析計のイオン源の検査試料とした。また、二酸化炭素の残りについて、安定同位体比測定用の多重コレクター型のガス質量分析装置（MAT-252, フィニガンマット・インスツルメント社製）を用いて、炭素安定同位体比（ $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ 比、通常は $\delta^{13}\text{C}_{\text{PDB}}$ で表される）を測定した。

表3 ゼラチン及び可溶性コラーゲンから二酸化炭素として回収された炭素の量の比較

項目	コラーゲン量 (mg)	CO <sub>2</sub> として回収された炭素の量(mg)	炭素の含有率 (%)
ゼラチンコラーゲン	10.10	4.24	42.0
可溶性コラーゲン	10.16	2.53	24.9

#### 4. 加速器質量分析法による $^{14}\text{C}$ 年代測定

上述のようにして調製した固形の炭素試料について、タンデトロン加速器質量分析計を用いて $^{14}\text{C}$ 年代測定を行った。タンデトロン分析計では、 $^{14}\text{C}$ と $^{13}\text{C}$ との存在比( $^{14}\text{C}/^{13}\text{C}$ 比(=R))が未知試料( $R_{\text{sample}}$ )と $^{14}\text{C}$ 濃度が既知の標準体( $R_{\text{AD1950}}$ )とについて交互に繰り返して測定され、 $R_{\text{sample}}/R_{\text{AD1950}}$ 比が得られる。この比から試料の $^{14}\text{C}$ 年代値が算出される。 $^{14}\text{C}$ 濃度の標準体としては、国際的な標準体であるNBS-SRM-4990 シュウ酸(NBS old)を用いた。また、 $^{14}\text{C}$ の半減期としては、国際的な慣例に従って、Libbyの半減期5,570年を用いた。 $^{14}\text{C}$ 年代値は、西暦1950年を遡った年数として与えられる。

#### 5. 結果及び考察

測定結果を表4に示す。年代値の誤差は、1標準偏差(one sigma)で示してある。これは、同様な条件で年代測定を100回繰り返したと想定したとき、年代値が誤差範囲内に入る割合は68回と予想されることを意味する。また、コラーゲンの $\delta^{13}\text{C}_{\text{PDB}}$ 値を用いて炭素安定同位体比の補正を行った（中村，1995）。

表4 ゼラチン及び可溶性コラーゲンから二酸化炭素として回収された炭素の $\delta^{13}\text{C}_{\text{PDB}}$ 及び $^{14}\text{C}$ 年代値

項目	$\delta^{13}\text{C}_{\text{PDB}}$ (‰)	$^{14}\text{C}$ 年代値 (yr BP)	測定コード番号
ゼラチンコラーゲン	-20.2	29200 ± 870	NUTA-5722
可溶性コラーゲン	-20.2	24880 ± 580	NUTA-5723

ここで、 $\delta^{13}\text{CPDB}$ は、

$$\delta^{13}\text{CPDB} (\%) = [({}^{13}\text{C}/{}^{12}\text{C})_{\text{sample}}/({}^{13}\text{C}/{}^{12}\text{C})_{\text{PDB standard}} - 1.0] \times 1000,$$

で定義される。 $({}^{13}\text{C}/{}^{12}\text{C})_{\text{PDB standard}}$ は Peedee Belemnite 標準体の  ${}^{13}\text{C}/{}^{12}\text{C}$  比である。また、 ${}^{14}\text{C}$ 年代値の算出にあたっては、この値を用いて炭素同位体分別の補正を行った。

$\delta^{13}\text{CPDB}$ 値は、ゼラチンコラーゲン、可溶性コラーゲンともに-20.2%と得られた。動物の化石骨から抽出されるコラーゲンの炭素および窒素安定同位体比 ( $\delta^{13}\text{CPDB}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$ )の値は、その動物が食べていた食物に依存して決まり、食性解析に利用されている (南川, 1993)。コラーゲンの  $\delta^{13}\text{CPDB}$  値-20.2%は、陸上の草食 (C3 植物) 動物の骨コラーゲンの値とされる-21~-23%とほぼ一致し、草食動物の一種であるナウマン象の臼歯コラーゲンの値としてきわめて調和的である。

${}^{14}\text{C}$ 年代値は、ゼラチンコラーゲンで 29,000 yr BP, 可溶性コラーゲンで 25,000yr BP と、約 4,000 年ずれた値が得られた。

一般に、新鮮な骨から抽出したコラーゲンでは、ゼラチンコラーゲンの方が、可溶性コラーゲンに比べて含有率が高く、年代が古くなるにつれて、可溶性コラーゲンの割合が増加する傾向にある。従って、ゼラチンコラーゲンの方が、骨などの試料に元来含まれていたコラーゲンに近いものであり、時間の経過にしたがって、ゼラチンコラーゲンが、構造がより簡単な可溶性コラーゲンへと分解すると考えられる。実際、この可溶性コラーゲンでは炭素の含有率が 25% (表 3) であり、ゼラチンコラーゲンについての値である 42%に比べてかなり低い。中村ほか (1996) は、 ${}^{14}\text{C}$ 年代値が  $780 \pm 70$  yr BP 及び現代と得られた 2 点のクジラ試料から回収されたゼラチンコラーゲンの炭素含有率をそれぞれ 42%, 41%と得ている。これらの値は、今回分析したナウマン象の臼歯試料から回収されたゼラチンコラーゲンについての値と一致する。このことから、臼歯試料のゼラチンコラーゲンは、他の炭素含有物からの汚染は少なく、それについて測定された  ${}^{14}\text{C}$ 年代値の信頼度は高いものと考えられる。

以上の考察から、本臼歯化石試料の  ${}^{14}\text{C}$ 年代値としては、ゼラチンコラーゲンについての値である  $29,200 \pm 870$  yr BP を採用してよいと考える。もちろん、ゼラチンコラーゲンの回収において炭素含有汚染物質を完全に排除できていなく、年代値の多少の若返りは完全には否定できない。これについては、本臼歯化石試料から、さらに臼歯に固有で純粋な炭素化合物であるアミノ酸を抽出し、それについて  ${}^{14}\text{C}$ 年代測定を実施することが期待される。当センターでは、骨などの試料からアミノ酸を抽出する方法をほぼ完成しており (南・中村, 1997), 本臼歯化石についても、アミノ酸抽出とその年代測定を実施する計画である。

## 6. 結論

愛媛県宇和海沖から採取されたナウマン象臼歯化石のゼラチンコラーゲン含有率は 1.22%と得られた。塩酸可溶性コラーゲンの含有率もほぼ同様な値である 1.51%と得



られている。新鮮な骨試料に比べて、ゼラチンコラーゲンの一部の分解が進んで塩酸可溶性コラーゲンが相対的に高くなっている。しかし、ここで得られたゼラチンコラーゲンの炭素含有率は新鮮なゼラチンコラーゲンのそれと一致しており、抽出されたゼラチンコラーゲンが他の炭素含有物により汚染されている可能性は少ない。また、抽出したゼラチンコラーゲンの  $\delta^{13}\text{C}_{\text{PDB}}$  値が  $-20.2\%$  と得られているが、これは陸上動物（すなわち象など）の骨コラーゲンの  $\delta^{13}\text{C}_{\text{PDB}}$  値として調和的である。以上のことから、白歯化石の  $^{14}\text{C}$  年代は、ゼラチンコラーゲンの  $^{14}\text{C}$  年代値として測定された  $29,200 \pm 870 \text{ yr BP}$  を採用してよいと考えられる。

### 参考文献

- 秋山雅彦・亀井節夫・中井信之（1988）日本海山陰沖海底産ナウマンゾウの加速器質量分析計による  $^{14}\text{C}$  年代。地球科学、**42**, p.29-31.
- 秋山雅彦・亀井節夫・中井信之（1989）海底産ゾウ化石の  $^{14}\text{C}$  年代。化石研究会誌、**22**, p.22-23.
- 秋山雅彦・中村俊夫・星見清晴（1992）加速器質量分析計による日本海山陰沖海底産の哺乳類化石の  $^{14}\text{C}$  年代—日本の第四紀層の  $^{14}\text{C}$  年代（175）—、**46(3)**, p.241-242.
- 有田陽子・中井信之・中村俊夫・亀井節夫・秋山雅彦・沢田 健（1990）哺乳類化石のコラーゲン抽出法とそのAMS法による  $^{14}\text{C}$  年代測定。名古屋大学古川総合研究資料館報告、**6**, p.45-54.
- 北川浩之・増澤敏行・松本英二・山口和典・中村俊夫（1991）水素還元法によるAMS法炭素-14測定のためのグラファイトターゲット作成法。名古屋大学加速器質量分析計業績報告書（II）, p.113-121.
- Kitagawa, H., Masuzawa, T., Nakamura, T. and Matsumoto, E.(1993) A batch preparation method of graphite targets with low background for AMS  $^{14}\text{C}$  measurements. *Radiocarbon*, **35(2)**, p.295-300.
- 南 雅代・中村俊夫（1997）骨化石試料に対する信頼度の高い  $^{14}\text{C}$  年代、炭素同位体比測定の試み。名古屋大学加速器質量分析計業績報告書（VIII）, p.247-257.
- 南川雅男（1993）アイソトープ食性解析法。日本第四紀学会編：第四紀試料分析法。2. 研究対象別分析法。東京大学出版会。404-414.
- 中村俊夫・中井信之（1988）放射性炭素年代測定の基礎—加速器質量分析法に重点をおいて—。地質学論集、**29**, 83-106.
- 中村俊夫・大塚裕之・奥野 充・太田友子（1996）東シナ海の大陸棚および琉球弧の海底から採取された哺乳類化石の加速器質量分析法による  $^{14}\text{C}$  年代測定。地学雑誌、**105(3)**, 306-316.
- 沢田 健・有田陽子・中村俊夫・秋山雅彦・亀井節夫・中井信之（1992）加速器質量分析計を用いた  $^{14}\text{C}$  年代測定による野尻湖層の編年。地球科学、**46(2)**, p.133-142.

高橋啓一（1991）ナウマン象の模式標本. 亀井節夫（編著）「日本の長鼻類化石」, 築地書館, p.112-116.

Vasil'chuk, Y., Punning, J.M. and Vasil'chuk, A. (1997) Radiocarbon ages of Mammoths in northern Eurasia: implications for population development and late Quaternary environment. *Radiocarbon*, 39 (1), 1-18.

# AMS $^{14}\text{C}$ Age of Collagen Separated from a Molar Fossil of Naumann's Elephant Collected from the Uwa-sea, Ehime Prefecture

Toshio NAKAMURA<sup>1)</sup>, Tomoko OHTA<sup>1)</sup>, Masazo MIYAMOTO<sup>2)</sup>,  
Masayo MINAMI<sup>1)</sup>, Hirotaka ODA<sup>1)</sup> and Akiko IKEDA<sup>1)</sup>

1) Dating and Materials Research Center, Nagoya University  
Chukusa, Nagoya 464-8602 JAPAN  
Tel: +81-52-789-2578, Fax: +81-52-789-3095

2) Educational Board of Honai-cho, Nishi-Uwa-gun, Ehime Prefecture  
1-260 Miyauchi, Honai-cho, Nishi-Uwa-gun 796-02 JAPAN  
TeL:0894-36-1111, ext.320, Fax:0894-36-3325

**Key words:** mammalian fossil, Naumann's elephant, molar fossil, collagen, accelerator mass spectrometry,  $^{14}\text{C}$  age

We have conducted  $^{14}\text{C}$  dating, with a Tandetron accelerator mass spectrometer (AMS) at Nagoya University, on carbon from collagen fractions extracted from a molar tooth fossil of Naumann's elephant (*Palaeoloxodon naumanni*) collected from the Uwa-sea, offshore Natori-Kajitanihana, Nishi-Uwa-gun, Ehime prefecture. The molar fossil was cleaned on the surface with a steel brush and a dental grinder, treated with 0.5M NaOH solution, and ground into powder. Two sets of the powdered sample, about 3.8 g and 4.9 g each, were demineralized with 1.2N HCl in a cellulose tube to extract collagen. After demineralization, HCl was completely removed from the tube by dialysis. Then the solution fraction in the tube was separated by centrifuge, and freeze-dried to get a solution-collagen fraction. Solid remains were put in a Pyrex tube with 20 ml of distilled water and heated at 90°C for 10 hours to extract the water soluble gelatin-collagen fraction. Collagen was oxidized, using CuO to produce CO<sub>2</sub>, in a Vycor tube at 950°C for an hour. A small aliquot of the CO<sub>2</sub> was

analyzed for its' stable carbon isotope ratio,  $\delta^{13}\text{CPDB}$ , using a triple-collector mass spectrometer (MAT-252). To produce graphite, the remaining  $\text{CO}_2$  was reduced by hydrogen, with an Fe-powder catalyst, in a Vycor tube at  $650^\circ\text{C}$  for several hours. The sample graphite was analyzed for its'  $^{14}\text{C}/^{13}\text{C}$  ratio, relative to that of an oxalic acid standard (NBS-SRM-4990).

In general, reliable  $^{14}\text{C}$  dates can be obtained for collagen fractions extracted from the fossil sample, provided that the collagen fractions have been preserved well from weathering in nature. Experimental yields of collagen fractions were relatively high, ranging from 1.22 to 1.51%. The  $\text{CO}_2$  yield from the gelatin collagen fraction was 42%, being consistent with the values of 41-42% for gelatin collagen extracted from fresh bone samples. On the other hand, the  $\text{CO}_2$  yield from the solution fraction was 25%, being lower than the values of 41-42%. Thus the  $^{14}\text{C}$  date of  $29,200 \pm 870$  yr BP, obtained for the gelatin collagen fraction, seems to be reliable and can be assigned as the age of the molar fossil sample, though the  $^{14}\text{C}$  date is about 4,000 years older than the value of  $24,880 \pm 580$  yr BP obtained for the solution collagen fraction.

The  $\delta^{13}\text{CPDB}$  values of  $-20.2\text{‰}$  for the both gelatin and solution collagen fractions were consistent with accepted  $\delta^{13}\text{CPDB}$  values, of from  $-21$  to  $-23 \text{‰}$  for herbivorous mammals.