

火葬骨の炭酸ヒドロキシアパタイトを用いた ^{14}C 年代測定を試み
An attempt on ^{14}C dating of carbonate hydroxyapatite in a cremated bone

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

¹名古屋大学理学部地球惑星科学科・²名古屋大学年代測定総合研究センター

¹Department of Earth and Planetary Science, Nagoya University, Chikusa, Nagoya 464-8602, Japan

²Center for Chronological Research, Nagoya University, Chikusa, Nagoya 464-8602, Japan

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

Abstract

Bone collagen, the organic fraction of the bone, is commonly used on ^{14}C dating of bone, while it can not be used for cremated bone because of no remain of collagen. Meanwhile, recent studies have presented that carbonate hydroxyapatite (CHA), the inorganic fraction of the bone, can be used for ^{14}C dating of cremated bone, though the CHA is easily contaminated by exogenous carbon and should be purified by chemical treatment. The purpose of this study is to test the reliability of ^{14}C dating of CHA by using a cremated bone of known-age in Japan. The samples used were the cremated bone, which is considered to be remains of Jokei, a Buddhist monk (AD 1155–1213). We examined whether chemical treatment of the cremated bone with 0.1 M acetic acid for a short time of 1 hour is adequate for removal of secondary carbonate to obtain innate CHA for accurate ^{14}C dating. The CHA in six fragments of the cremated bone showed ^{14}C dates between 1155–1280 cal AD, which are similar with the supposed age. The result indicates the effectiveness of acetic acid treatment and the possibility of accurate ^{14}C dating of CHA by the appropriate chemical treatment.

Keywords: radiocarbon dating; cremated bone; carbonate hydroxyapatite

1. はじめに

遺跡から出土する骨は、 ^{14}C 年代測定の対象となり、遺跡の年代決定に有用である。さらに、骨自体にも考古学的・人類学的に重要な情報が含まれている場合がある。例えば、骨の形態からは体格や病気、けがなどに関する情報を、安定同位体分析からは食性や古環境に関する情報を、ストロンチウム同位体比や古 DNA 解析からは民族の系統や移動に関する情報を得ることができる。これらの情報に必要不可欠な時間軸を与えるためにも骨を直接年代測定することが重要である。骨の ^{14}C 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を用いるのが一般的である。しかし、乾燥や加熱などの影響により、有機成分が損失し、年代測定が不可能な骨試料は少なくない。近年、このような骨試料に対し、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 年代測定の試みがなされている(e.g. Mulder *et al.*, 2007; Cherkinsky *et al.*, 2013)。

骨の無機成分の大部分はヒドロキシアパタイト[$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$]が部分的に炭酸基と置換した CHA であり、骨中炭素の約 1%を含んでいる。CHA は結晶性に乏しく、土壌に埋没している間に、二次的な炭酸塩が沈着したり、周辺の外来炭素と同位体交換を起こしたりするなど、コラーゲンに比べ汚染されやすいため、 ^{14}C 年代測定には適さないと考えられてきた。しかし、最近の研究により、高温で火葬された骨の CHA から信頼性のある ^{14}C 年代が得られたことが報告されている(Lanting

et al., 2001)。日本を含めた東アジアでは古くから火葬の文化があり、火葬骨が頻繁に出土している。火葬骨の ^{14}C 年代測定が有効であるならば、これまで間接的に求めていた、有機物が残存していない火葬骨の年代を骨から直接求めることができる。本研究の第 1 の目的は火葬骨の CHa を用いた信頼性のある ^{14}C 年代測定の実証を行うことである。

CHa を年代測定するにあたって、外来炭素による骨試料の汚染を除去することは、正確な ^{14}C 年代を得るために必要不可欠である。しかし、1970 年代に入るまで、骨試料はほとんど化学処理されておらず、2 次的な炭酸塩と骨本来の炭酸塩の混合物の年代が測定されており、若い年代を示す場合が多かった(Zazzo *et al.*, 2011)。そのため、骨の CHa は ^{14}C 年代測定において不適切なものであるという見解がなされてきた(e.g. Olson *et al.*, 1961; Berger *et al.*, 1964)。Haynes (1968) によってこの状況は変わり、選択的に 2 次的な炭酸塩を除去するために、酢酸による化学処理を行うことが一般的となった。現在では、多くの研究者が、1.0M 酢酸を用いて 12 時間から 24 時間程度の化学処理を行い、その後 85–100%リン酸により骨の CHa から炭素成分を得ている(e.g. Lanting *et al.*, 2001; Zazzo *et al.*, 2013)。しかし、酢酸処理の過程で、試料が 50%以上溶出する危険があるため(Garvie-Lok *et al.*, 2004)、取り扱う試料が少量に限られる場合は、使用する酢酸の濃度や処理時間に十分注意する必要がある。Balter *et al.* (2002)や Balasse *et al.* (2002)では、試料の溶出を最小限にとどめるため、0.1M 酢酸を用いて 1 時間から 4 時間程度の酢酸処理を行っている。しかし、これらの研究はいずれも炭素安定同位体分析を対象としているため、 ^{14}C 年代測定において低濃度・短時間の酢酸処理が十分有効であるかは分からない。本研究の第 2 の目的は、少量(1g 程度)の試料に対する低濃度・短時間の酢酸処理が ^{14}C 年代測定において有効であるかどうかを検討することである。

2. 試料と方法

火葬骨試料として、奈良県生駒郡三郷町勢野東に所在する持聖院に保管されている蔵骨器内の人骨を用いた。この人骨は、平安時代末から鎌倉時代にかけて活躍した僧・貞慶(AD 1155–1213)の遺骨であるとされている。

試料は蒸留水で超音波洗浄し凍結乾燥後、メノウ乳鉢を用いて粉砕した。粉砕した試料は、Balter *et al.* (2002) を参考にし、図 1 の手順により酢酸処理を行った。試料約 1 g が入ったサンプルビンに 0.1M に調整した酢酸溶液 60 mL が入った 300 mL ナスフラスコに入れ、約 -90°C のエタノールで酢酸溶液を凍らせる。その後、ナスフラスコを真空ラインに接続し、フラスコ内を真空にした後、フラスコを真空ラインから取り外す。凍らせた酢酸溶液が溶け終わったら、サンプルビン内の試料と酢酸溶液を 1 時間反応させる。これらの操作の目的は、試料を真空下で酢酸と反応させることで、試料と酢酸の反応速度を高め、1 時間程度の酢酸処理で試料に沈着する 2 次的な炭酸塩を効果的に除去することである。その後、再びナスフラスコを真空ラインに接続し、液体窒素、エタノールと液体窒素の混合物を冷媒として用いて CO_2 を精製する。酢酸処理後、試料はパストールを用いて遠沈管に回収し、超純水で数回洗浄を行った。その後、一晚凍結乾燥を行った。

酢酸処理後の試料を 200 mg はかり取り、二股管の一方に入れ、他方に 85%リン酸 3 mL を入れた。試料とリン酸が入った二股管を真空ラインに接続し、半日排気した。その後、真空ラインから二股管を取り外し、試料とリン酸を一晚反応させた。発生した CO_2 を真空ラインに導入し、液体窒素およびエタノールと液体窒素の混合物の 2 種類の冷媒を用いて CO_2 を精製した。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、グラフアイトを作成した。その際に鉄粉末を触媒として用いた。得られたグラフアイトをアルミニウム製の試料ホルダーに圧縮封入し、名古屋大学年代測定総合研究センターのタンデトロン加速器質量分析計によって ^{14}C 年代測定を行った。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 ($\delta^{13}\text{C}_{\text{PDB}}$) を測定した。

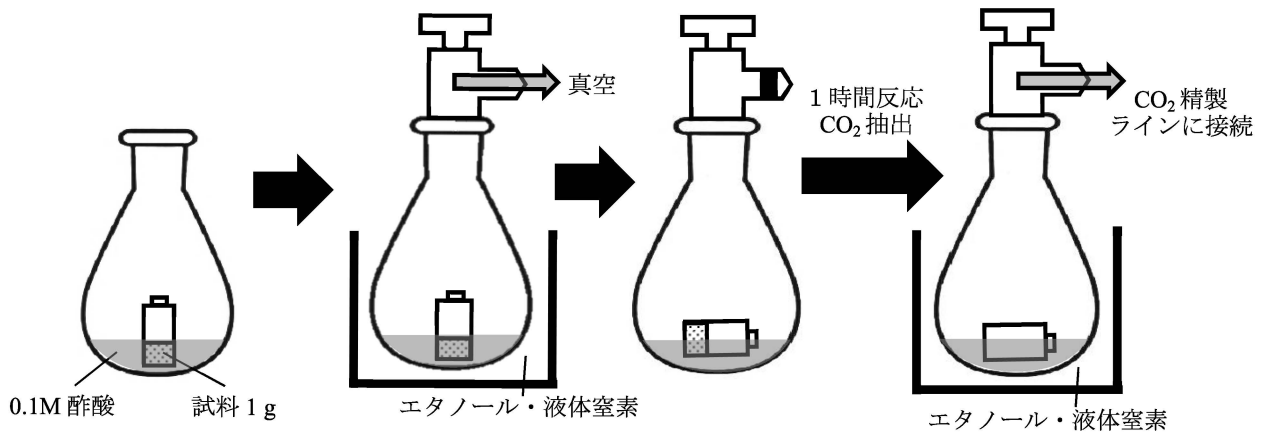


図 1. 試料の酢酸処理の概略

3. 結果と考察

各試料の ^{14}C 年代値を図 2 に、 $\delta^{13}\text{C}_{\text{PDB}}$ 値を図 3 に、較正年代を図 4 に示す。 ^{14}C 年代値の暦年較正には IntCal13 (Reimer *et al.*, 2013) に基づき、OxCal4.2 プログラム (Bronk Ramsey, 2009) を用いた。“汚染・CO₂”は、酢酸処理により発生した CO₂、つまり 2 次的な炭酸塩などの外来炭素を多く含んでいる可能性がある CO₂ を、“CHa・CO₂”は、リン酸分解により発生した CO₂、つまり CHa に由来する炭素を含んでいると考えられる CO₂ を示す。

CHa・CO₂ と汚染・CO₂ の ^{14}C 年代を比較してみると、すべての試料において CHa・CO₂ は 800 BP 付近の年代を示すのに対し、汚染・CO₂ は CHa・CO₂ よりも 400 年以上若く、ほぼ現代の ^{14}C 年代を示すことが分かった(図 2)。また、CHa・CO₂ の $\delta^{13}\text{C}$ 値は -21.7~-15.2‰ と、試料によってばらつく傾向が見られたが、汚染・CO₂ の $\delta^{13}\text{C}$ 値は -9.8~-8.4‰ と、試料ごとの差が小さいほぼ一定の値を示した (図 3)。この $\delta^{13}\text{C}$ 値は、大気中 CO₂ の $\delta^{13}\text{C}$ 値 (-7~-8‰: Hoefs, 2007; ~-9.0‰: 加藤ほか) と近い値であった。これらのことから、骨試料には、大気中の CO₂ に由来する 2 次的な炭酸塩などによる、外来炭素の汚染があったことが示唆される。火葬骨試料は蔵骨器に納められた状態で埋没していたため土壌や水の影響を受けにくかったにもかかわらず、数百年の埋没期間のうちに、大気中の水分などと反応して、2 次的な炭酸塩が沈着していたと考えられる。

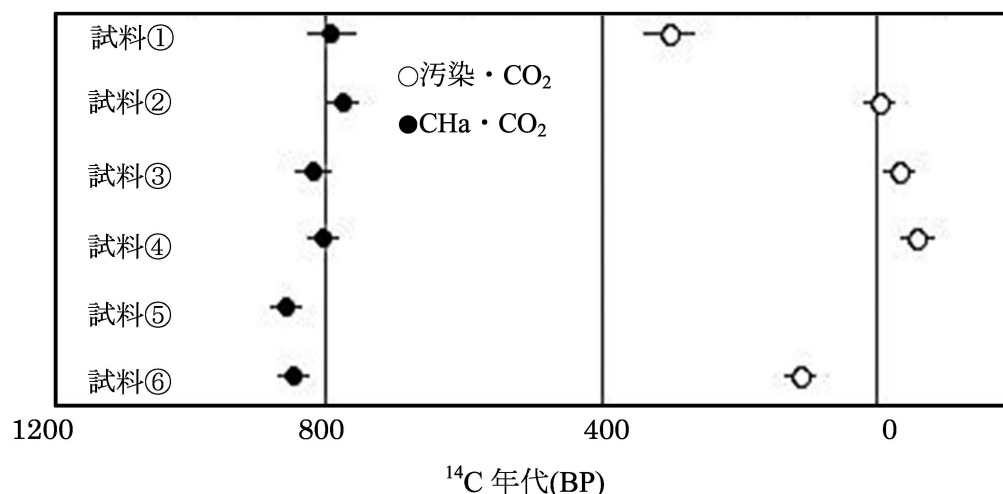


図 2. 各試料に酢酸処理を施して発生した CO₂(○)と酸処理後の試料をリン酸分解して発生した CO₂(●)の ^{14}C 年代(BP)の比較。

CHa・CO₂ から得られた ¹⁴C 年代を暦年代に較正したところ、すべての試料が貞慶の没年と 2σ の誤差範囲で一致する結果となった。このことから、本研究で使用した火葬骨は、2 次的な炭酸塩等の外来炭素の汚染があったものの、0.1M の酢酸を用いた 1 時間程度の酸処理によって効果的に除去可能であり、本質的な CHa のみを抽出することにより、信頼性のある ¹⁴C 年代が得られたと考えられる。この結果は、また、CHa 中に周辺の外来炭素との同位体交換による汚染がなかったことを示している。CHa 結晶内への外来炭素の取り込みがなかった理由として、本研究で用いた火葬骨は蔵骨器に入っていたため、土壌等から由来する外来炭素の汚染の影響が少なかったこと、さらに、高温で加熱されているために CHa の結晶性が高まっていたことなどが挙げられる。今後、異なる埋没状態や、より年代値の古い火葬骨試料についてさらなる検証を行っていく予定である。

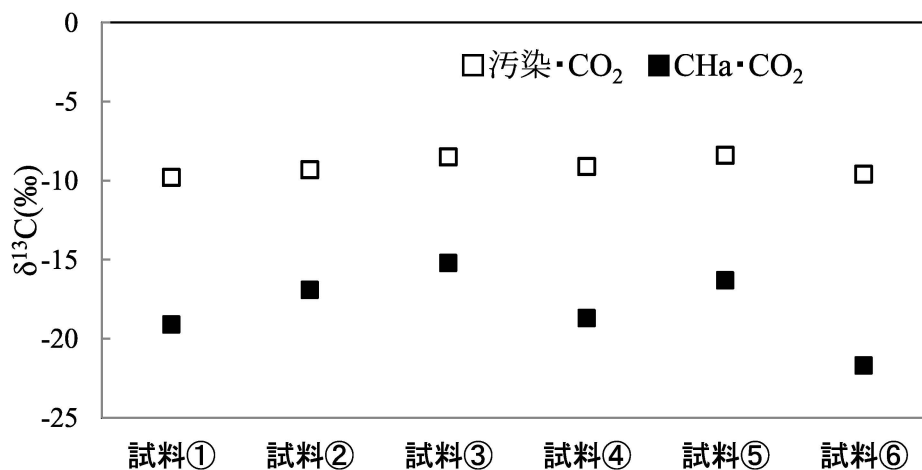


図 3. 各試料に酢酸処理を施して発生した CO₂(□)と酸処理後の試料をリン酸分解して発生した CO₂(■)の δ¹³C の比較。

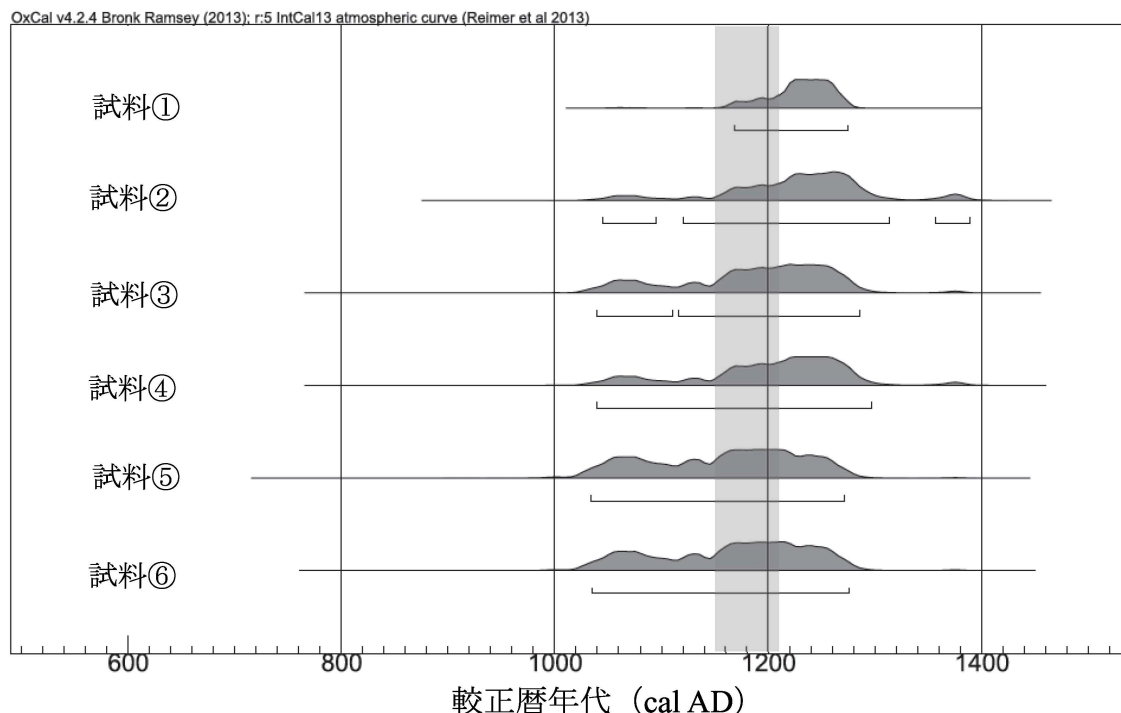


図 4. 各試料の較正暦年代。灰色の領域は、貞慶の生存年(AD 1155-1213)を示す

謝辞

名古屋大学年代測定総合研究センターのタンデムグループの皆様、名古屋大学理学部地球惑星科学科地球化学講座の皆様には本研究に対し多くの助言をいただきました。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

- Balasse, M., Ambrose, S.H., Smith, A.B., Price, T.D. (2002) The seasonal mobility model for prehistoric herders in the south-western Cape of South Africa assessed by isotopic analysis of sheep tooth enamel. *J. Arch. Sci.*, 29, 917-932.
- 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.
- Bronk Ramsey, C. (2009) Bayesian analysis of radiocarbon dates. *Radiocarbon*, 51, 337-360.
- Berger, R., Horney, A.G., Libby, W.F. (1964) Radiocarbon dating of bone and shell from their organic components. *Science*, 144, 999-1001.
- Cherkinsky, A., Dantas, M.A.T., Cozzuol, M.A. (2013) Bioapatite ^{14}C age of giant mammals from Brazil. *Radiocarbon*, 55, 464-471.
- De Mulder, G., Van Strydonck, M., Boudin, M., Leclercq, W., Paridaens, N., Warmenbol, E. (2007) Re-evaluation of the Late Bronze Age and Early Iron Age chronology of the western Belgian urnfields based on ^{14}C dating of cremated bones. *Radiocarbon*, 49, 499-514.
- Garvie-Lok, S.J., Varney, T.L., Katzenberg, M.A. (2004) Preparation of bone carbonate for stable isotope analysis: the effects of treatment time and acid concentration. *J. Arch. Sci.* 31, 763-776.
- Haynes Jr., C.V. (1968) Radiocarbon, analysis of inorganic carbon of fossil bone and enamel. *Science*, 161, 687-688.
- Hoefs, J. (2007) *Stable Isotope Geochemistry*, Springer. 翻訳本は、J. ヘフス著 (和田秀樹・服部陽子 訳) 同位体地球化学の基礎. Springer Japan.
- Lanting, J.N., Aerts-Bijma, A.T., van der Plicht, J. (2001) Dating of cremated bone. *Radiocarbon*, 43, 249-254.
- 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滴下水の ^{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.
- Olson, E.A., Broecker, W.S. (1961) Lamont Natural Radiocarbon Measurements VII. *Radiocarbon*, 3, 141-175.
- Reimer, P. J., Bard, E., Bayliss, A., Beck, J. W., Blackwell, P. G., Bronk Ramsey, C., Buck, C. E., Cheng, H., Edwards, R. L., Friedrich, M., Grootes, P. M., Guilderson, T. P., Hajdas, I., Hatté, C., Heaton, T. J., Hoffmann, D. I., Hogg, A. G., Hughen, K.A., Kaiser, K. F., Kromer, B., Manning, S. W., Niu, M., Reimer, R. W., Richards, D. A., Scott, E. M., Southon, J. R., Staff, R. A., Turney, C. S. M., van der Plicht, J. (2013) INTCAL13 and MARINE13 radiocarbon age calibration curves, 0-50,000 years cal BP. *Radiocarbon*, 55, 1869-1887.
- Zazzo, A., Saliège, J.-F. (2011) Radiocarbon dating of biological apatite: A review. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 310, 52-61.
- Zazzo, A., Lebon, M., Chiotti, L., Comby, C., Delqué-Količ, E., Nespoulet, R., Reiche, I. (2013) Can we use

calcined bones for ^{14}C dating the Paleolithic? *Radiocarbon*, 55, 1409-1421.

日本語要旨

骨の ^{14}C 年代測定には、有機成分であるコラーゲンを利用するのが一般的である。しかし、コラーゲンが損失しているため、 ^{14}C 年代測定が困難な骨試料も少なくない。そのような骨試料、特に火葬骨に対して、近年、無機成分の炭酸ヒドロキシアパタイト(CHa)を用いた ^{14}C 年代測定が試みられている。そこで、本研究では、年代既知の火葬骨に対して、実際に、CHa を用いて信頼性のある ^{14}C 年代測定が可能かどうかの検証を行った。また、二次的な炭酸塩による汚染を除去するための低濃度短時間の酢酸処理の有効性についても評価を行った。用いた火葬骨試料は、奈良県三郷町の持聖院に所蔵されていた蔵骨器内の骨片である。この人骨は、平安時代末から鎌倉時代にかけて活躍した僧・貞慶(AD 1155-1213)の遺骨であるとされている。年代測定の結果、本研究で使用した火葬骨 6 点から得られた ^{14}C 年代は 1155-1280 cal AD という、貞慶の没年と 2σ の誤差範囲で一致する結果となった。一方、酢酸処理により発生した CO_2 は現代に近い年代を示したことから、本研究で使用した火葬骨は、2 次的な炭酸塩等の外来炭素の汚染があったものの、酢酸処理によって効果的に除去された結果、CHa の信頼性のある ^{14}C 年代測定が可能であったことがわかった。また、真空下における、0.1M の酢酸による 1 時間程度の酸処理の有効性も明らかになった。今後、より年代の古い試料や保存状態の異なる試料についても検討を行っていく予定である。