

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 14 日現在

機関番号：12611

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2010～2012

課題番号：22500975

研究課題名（和文） 高精度放射性炭素年代測定に向けて化石骨試料の精緻調整法の開発

研究課題名（英文） Examination of the pretreatment method of a fossil bone sample for high resolution radiocarbon dating

研究代表者

近藤 恵 (KONDO MEGUMI)

お茶の水女子大学・大学院人間文化創成科学研究科・助教

研究者番号：40302997

研究成果の概要（和文）：

研究対象となる稀少な化石骨を入手し、それらを年代測定用試料に調製するため、コラーゲンの抽出を行い、さらに限界濾過により高分子画分を分取した。それらのアミノ酸分析を行った結果、外来炭素による汚染の可能性のあるアミノ酸を一部排除した上で、目的とするアミノ酸を含んだ状態で試料を分離できる可能性が示された。新たに確認された問題も多く、最終目標である、より高品質な年代測定用試料を分取するまでには、さらに検討を重ねなければならなかったが、調製試料の質を確認できるシステムを構築することができた。

研究成果の概要（英文）：

As samples for the research, I got some valuable fossil bones. Collagen was extracted from each bone sample, continuously the macromolecule fraction was extracted by ultrafiltration. Furthermore, amino acid analysis was done in those samples. As a result, a possibility was shown that it would succeed in eliminating a part of amino acid of possible contamination by external carbon, moreover, a sample would be separable where the target amino acid is included. On the other hand, some new problems were appeared, further examination would be needed in order to obtain the higher quality samples for age determination. However, it can be said that it is a good result that the system which can check the quality of samples was equipped.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	2,300,000	690,000	2,990,000
2011年度	900,000	270,000	1,170,000
2012年度	300,000	90,000	390,000
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：文化財科学

キーワード：自然人類学，考古学，層位・古生物学，放射性炭素年代測定，化石骨

1. 研究開始当初の背景

放射性炭素年代測定法は、炭素を含む考古学的試料などに対する信頼性の高い絶対年代測定法として広く利用されている。この方法が Libby により開発された 1950 年代頃は、試料中の ^{14}C が放射線変化する際に放出される放射線を検出することにより測定されており、1g を超える多量の炭素を必要としていたため、貴重な文化財級の試料や、炭素量の少ない遺物に対しては、実際に適用することができなかった。したがって、大きく破壊分析できない貴重な試料については直接分析せず、それと同一層準から出土した別の試料（木材など）を代替試料として測定し、それを問題の未知試料の年代に読み替えてきた。この場合、問題の試料と代替試料との同時代性が常に問題となっていた。

1980 年代に加速器質量分析 (AMS) が導入され、ごく微量の放射性同位体が測定できるようになったことにより、適用範囲は飛躍的に広がり、様々な考古学的試料について、直接測定が可能となってきた。このことは、考古学や人類学など、歴史を扱う学問分野に対し、多大な成果をもたらしている。AMS では、測定に供する量が格段に少なくてすむため試料の破壊量が極力抑えられ、測定が可能になったものもあるが、試料によっては保存状態が悪く残存する炭素物質が非常に少ないため、測定に適うだけの炭素を抽出できないものも数多くある。そのような試料から如何に効率よく炭素物質を抽出するかという研究が多くの研究者により進められ

(Stafford et al., 1988 ; 南, 2000 ; 松浦ほか, 1993)、適用可能な範囲が広がってきている。また、放射性炭素年代測定においては、問題の未知試料に混入する外来の炭素を完全に取り除くことが必要である。外来炭素の影響は非常に大きく、精度を下げる程度のものから、本来の年代とは全く異なる値を算出してしまうものまで様々であり、いずれにしても、外来炭素の除去は必須の条件である。しかしながら、対象となる試料の多くは土中に埋存されていたものであり、外来炭素をはなはだしく含んでいることが多い。これらの汚染物質を厳密に分離するための研究も進められており、より精度の高い測定が目指されてきた (stafford et al., 1988 ; 南, 2000)。これらの成果を踏まえてさらに多くの試料に適用され、より精度のよい直接測定がなされた結果、前述の代替試料とは大きく異なる

年代値が得られる例が見られ (Matsu'ura & Kondo, 2001 ほか)、問題となる試料の直接測定の重要性が明らかに示された。

^{14}C 年代の信頼性を高めるためには、上述の試料調製に関することのみならず、分析計の状態を最善化することも重要であり、測定を行う各施設においては常にその努力がなされ、バックグラウンドの低減によって検出限界をより低め、より古い試料についても信頼できる年代値を得ることも可能となっている。また、測定値算出の前提となる ^{14}C 初期濃度の問題を解消するため、昨今では、暦年代較正を行うのが一般的となっているが、その較正曲線を得るため、樹木年輪データの集積がなされている。

この較正曲線は、たとえば IntCal 98 の頃には、データが少ないため緻密な変化が見えなかったり、データが乏しく適用できない年代域があったりと、まだ問題が多かったが、多くの研究者により継続的にデータの集積がなされ、IntCal 04 ではより密な較正曲線が広範囲に描かれている。またこれに併せてウイグルマッチングという方法も取り入れられ、より正確に樹木の暦年代を決定することも可能となっている。特に、 ^{14}C 初期値の地域効果を考慮し、日本の試料に対するさらに高精度な年代決定を目指して、日本版炭素 14 年代較正曲線を作成するというプロジェクトが遂行され、目覚ましい成果を上げた (学術創成研究, H16~20, 代表者: 西本豊弘)。そのプロジェクトにおいては、前述の年輪年代も、10 年ごとの年輪をまとめて試料とする 10 年輪から、5 年輪、さらには単年輪へと、試料をより緻密に分けて、より正確な年代値を得る方向へ研究が進められた。

このように、年代決定の高精度化が進められる中、測定試料の吟味はさらに緻密な段階へ来ているといえる。たとえば、土器に付着する炭化物 (お焦げ) は、これまでも測定試料として適用されていたが、特に詳しく吟味されてはいなかったが、現在では、その炭化物が何に由来するものであるかを明らかにする研究が、様々な方法を用いて進められ、目的とする試料をより詳細に分離することが検討されている。それに伴い、海洋リザーバ効果を検討する必要性についても言及されるようになってきている。化石骨試料については、これまでも申請者らによって、試料の精製度を高めることを目指して研究がなされてきたが、さらにマイクロなレベルでの吟味へと発展させていく必要がある段階に来たと

考えている。

2. 研究の目的

放射性炭素年代測定に適用する化石骨試料について、正確な年代を求めるためには、試料に混入する汚染を如何にして取り除くかが大変重要な問題である。そこで、従来よりも詳細なレベル、すなわち、従来のタンパク質レベルからアミノ酸レベルに移行して、試料の内容を吟味し、より厳密に測定対象試料を選別することによって、目的試料の本来の年代を、より精度高く求めることを可能にすることを目的とした。そのために、試料のアミノ酸レベルでの選別方法をさまざまに試み、現在、放射性炭素年代測定の利用者から提供される試料について、現在、配慮されていない危険な点を明確にしながら、最適な方法を示すことを最終的な目標とした。

3. 研究の方法

本研究においては、従来の方法により化石骨試料から抽出したコラーゲンをを用い、これらの試料に限外濾過およびアミノ酸分析を施すことにより、コラーゲンを構成するアミノ酸を部分ごとに分け、分析試料に含まれる汚染物質である外来炭素をどの程度まで排除することができるかを検討した。これにより、外来炭素の影響による危険性を指摘し、さらに、どのアミノ酸が目的とする年代を保持するものであるかについて検討し、化石骨試料の最適な試料調製法の提案を試みた。

具体的には、日本列島から出土した化石獣骨および化石人骨を研究対象とし、それらの放射性炭素年代を測定するための試料調製法を検討するため、次の方法を試した。

化石骨から抽出したゼラチン化コラーゲンに、限外濾過を施し、いくつかのパターンで低分子のアミノ酸を除去したサンプルを調製した。それらの試料について、液体クロマトグラフィーに搭載したアミノ酸分析システムにより、除去されたアミノ酸と、残存するアミノ酸の確認を行った。

4. 研究成果

研究試料として、東京大学総合研究博物館および沖縄県立博物館の協力を得て、そこに保管されている貴重な化石骨試料を多数入手することができた。

用いる試料は、試料部位を骨部と歯の象牙質部に分け、デンタルドリルを用いて内外表面および細孔内の肉眼で確認しうる外来鉍物をすべて機械的に削除した。洗浄後の試料片を細粉化し、HClによる脱灰、NaOH処理による洗浄（いわゆるAAA処理と同様のもの）

を施した後、90℃で10時間以上加熱し、コラーゲンをゼラチン化して回収した。そうして得られた試料を各々二分割し、一方をそのまま凍結乾燥させて乾燥コラーゲンを得た。

もう一方は、HClを用いて加水分解し、アミノ酸の状態に調製した。これらを2～3種類のフィルターで限外濾過し、含有するアミノ酸の分子量を、さまざまに分けて回収した。

これらをそれぞれロータリーエバポレータで酸溶媒の除去をし、粘液状の試料を得た。各粘液状試料は、蒸留水で溶解しながら回収し、アミノ酸分析用試料とした。

次にそれらのアミノ酸分析を行い、試料溶液中に含まれるアミノ酸の確認を行った。この段階で、目的とするアミノ酸のひとつであるプロリンの分解がなかなか容易にいかず、その部分をきちんと分離することが新たに課題となった。分析方法の細かい点を検討した結果、この点はほぼ解決された。この辺りの内容は、現在までに未発表であるため、詳しいデータ等は控えることとする。

さらに、長年問題視してきたロータリーエバポレータによって得られる粘液試料についてであるが、この方法では試料の損失があまりにも大きいため、たとえば文化財としての価値の高い試料である場合には、測定すること自体が現実的でなくなってしまうことが考えられ。

一方、限外濾過について、現在の方法では、この実験過程での試料の損失が非常に大きく、最終的に得られる試料量が非常に少なくなってしまうことが、新たに問題として確認された。当初の計画では、試料を分子量で分画したものからそれぞれ放射性炭素年代値を求めて、相違を確認するところまで遂行する予定であったが、限外濾過処理後の試料量が、年代値を求めるために必要な量を十分に得ることが適わず、課題として残された。乾燥コラーゲンの状態に調製した試料については、放射性炭素年代測定を進めたので、今後、限外濾過処理後の試料の回収がうまくいくようになった場合の比較データが十分に得られた。

なお、供した骨試料は、できるだけ外観で汚染度の違いのあるものを選んであり、汚染度の強いものと弱いもの間で、同様にアミノ酸の分析を行って、アミノ酸の残留具合の違いを比較できるようにした。

今回の研究では、当初より技術的な面でかなり厳しい要求をしていたため、分析を適当な状態で行えるようになるまでにかかなり時間を要した上、途中、新たな問題が次々と露わになったため、思うような速度で結果を得られず、当初、申請者本人が期待したほどの成果にはなかなか届かなかった。

しかしながら、分析試料をアミノ酸レベルで確認するシステムが出来上がり、試料の質

の向上につながる成果が見えてきたと言え、先へつながる重要な一歩が踏み出せたものと考えている。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

現在までに成果の発表には至っていないが、今後、学会での口頭発表および論文の投稿を予定している。

6. 研究組織

(1) 研究代表者

近藤 恵 (KONDO MEGUMI)

お茶の水女子大学・大学院人間文化創成科学研究科・助教

研究者番号：40302997

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし