

## 第2項 田小屋野貝塚出土人骨の炭素・窒素同位体分析と放射性炭素年代測定

東京大学・総合研究博物館

米田 穰

### はじめに

本研究では、田小屋野貝塚から出土した人骨からコラーゲンを抽出し、その炭素・窒素同位体比の特徴から、生前に利用されたタンパク質を推定した。また、あわせて放射性炭素年代を測定した。遺跡から出土する古人骨資料は食物に含まれる元素から構成されるので、その化学成分には様々な食生活の特徴が反映され、過去の食生活に関する直接的な証拠となる。なかでも組織の土台を形作るタンパク質であるコラーゲンは、条件が良ければ数千年の時を経過した古人骨からでも生前に残された食生活の情報を抽出することができる。コラーゲンの炭素・窒素同位体には、食物のうち主にタンパク質の同位体の特徴が、利用した食料の量に応じて反映すると考えられている (Ambrose 1993)。また、骨の置換速度は遅いので、骨コラーゲンの同位体比は、その個体が死亡する直前10年程度の平均的な食生活を反映する。したがって、年間を通じて相対的に重要だったタンパク質源を推定することが可能である。

### 資料と方法

本研究では、田小屋野貝塚から出土したAトレ5号人骨の肋骨から、約0.3gの破片を採取し、分析に供した。骨片試料を純水中で超音波洗浄した後、0.2mol/Lの水酸化ナトリウム溶液に12時間浸けて、フミン酸やフルボ酸などの土壤有機物を除去して、乾燥後に粉碎する。この粉末試料を半透膜に封入し、1mol/Lの塩酸と穏やかに反応させて、骨の無機成分ハイドロキシアパタイトを溶解した。次に、残存した有機物を純水中で90°Cに加熱することでコラーゲンのみを可溶化し、土壤有機物とコラーゲンを分離した。このように得られた溶液をガラスフィルター (Wattmann GF/F) でろ過した後に、凍結乾燥した抽出物 (ゼラチン) を元素分析および炭素・窒素安定同位体比分析に供した (Longin 1971; Yoneda et al. 2002)。

上記の方法で抽出されたゼラチンから約0.5mgを分取して、炭素・窒素安定同位体比分析に供した。同位体比測定には、元素分析計 (EA: Thermo Flash 2000) で試料を燃焼し、生成された二酸化炭素および窒素を連続フロー型安定同位体比質量分析器 (IRMS: Thermo Delta V) で測定するEA-IRMSシステムを使用した。通常の測定精度は炭素同位体比 ( $\delta^{13}\text{C}$ 値) で0.1‰程度、窒素同位体比 ( $\delta^{15}\text{N}$ 値) で0.2‰程度である。元素分析計では同時に炭素と窒素の含有量を測定しており、炭素と窒素の含有率、C/N比を基準として、コラーゲンの保存状態と汚染状況を検討する。なお、安定同位体比は、それぞれの絶対値ではわずかな違いしかないので、国際標準物質との偏差を千分率 (‰) として表記する。炭素ではベレムナイトの化石 (PDB) を基準とし、窒素では大気中の窒素 (AIR) を基準としている。

放射性炭素年代を測定するために、ゼラチン約2.5mgからグラファイトを以下の手順で作成した。試料燃焼は、石英ガラス製二重封管に酸化銅・サルフィックスとともに真空封入し、電気炉で850°Cに3時間加熱して行った (Minagawa et al. 1984)。二酸化炭素からグラファイトへの還元は、コック付き反応管に鉄触媒約2mgおよび水素 (炭素モル数の2.2倍相当) を封入して、450°Cで8時間加熱して実施した (Kitagawa et al. 1993)。グラファイト化した炭素試料における放射性炭素同位体比の測定

は、(株)パレオ・ラボが所有する加速器質量分析装置 (AMS) を用いて測定した (Kobayashi et al. 2007)。慣用 $^{14}\text{C}$ 年代 (BP年代) を算出するために、同位体比分別の補正に用いる $\delta^{13}\text{C}$ 値はAMSにて同時測定した値を用いている (Stuiver and Polach 1977)。 $^{14}\text{C}$ 年代の誤差は1標準偏差を示す。較正データにはIntCal13とMarine12を使用 (Reimer et al. 2013)。較正年代の算出には、OxCal4.1 (Bronk Ramsey, 2009) を使用した。

## 結果と考察

田小屋野貝塚から出土した縄文時代人骨からは、約15mgのゼラチンが回収されて、その回収率は重さで約5.5%に相当し、保存状態が良好とされる基準 (1%) よりもかなり良好な回収率であると言える。有機物であるコラーゲンは、生物の死後に自らのタンパク質分解酵素やバクテリアなどによって分解が急速に進む。また土壌埋没中に進行する化学変化、土壌有機物による汚染などでも同位体比が変動する可能性があるため、上記の前処理で抽出された有機物が生体に由来するコラーゲンかどうかを確認する必要がある。コラーゲンの保存状態の指標として、ゼラチンに含まれる炭素と窒素の含有率とその比 (C/N比) を用いることが多い。例えば、現代の動物ではC/N比は3.2を中心として2.9と3.6の間の値を示すので、C/N比が3.1だった本試料では、炭素が多く含有する土壌有機物等が混入している危険は小さいと考えられる (DeNiro 1985)。さらに抽出された有機物中での炭素と窒素の重量比では、それぞれ保存状態がよければ30%以上と11%以上を示すとされている (van Klinken 1999)。今回分析した田小屋野貝塚出土人骨は、炭素含有率が40.5%、窒素含有率が15.5%を示しており、抽出されたゼラチンは変性の影響を受けていないコラーゲンが主成分であり、その炭素・窒素同位体比は生前の食生活を反映していると判断された。また、放射性炭素年代測定にも、汚染の影響を少ないと判断された。

田小屋野貝塚出土人骨では、炭素同位体が-18.5‰、窒素同位体比が11.0‰という値が示された (表1)。これを日本列島で利用できる典型的な動植物の同位体比と比較してみよう。図1には、炭素・窒素同位体比の特徴が異なる代表的な食料資源の平均値と1標準偏差の大きさを四角形で表している。コラーゲンでは、食物中のタンパク質から合成されるときに、炭素同位体で4.5‰ほど、窒素同位体比で3.5‰ほどの濃縮が起こるので、その値を食料資源の平均値に加えたものを図示して、古人骨の同位体分析の結果と比較している。田小屋野貝塚出土人骨の炭素・窒素同位体比は、遺跡周辺の生態系で一般的な食料資源である堅果類やイモ類などを含むC3植物と、海産物なかでも魚類との中間点に位置している。陸上の生態系だけではこのような高い窒素同位体比を示すことは考えにくく、海産物や淡水魚などをかなりの割合で摂取していたことが推定される。海産物が主に利用されていたならば、タンパク質の半分程度を供給していたと推測される。淡水魚が利用されていた可能性も検討する必要があるが、淡水魚は場所と時代によって同位体の値が大きく変動する可能性があるため、同じ遺跡から出土した淡水魚の骨と直接的に比較検討することが必要であり、その重要性の評価は今後の課題としたい。

田小屋野貝塚出土人骨で示された放射性炭素年代は、 $4973 \pm 25$  BP (未較正) であり、縄文時代前期という考古学的所見と矛盾しない。この未較正の放射線炭素年代は、半減期や放射性炭素の初期濃度に不正確な仮定をおいているため、より正確な年代に較正する必要がある。さらに、田小屋野貝塚出土人骨の場合は、放射性炭素の存在比が大気や陸上の動植物よりも少ない海産物をかなり摂取しているので、その分のずれ (海洋リザーバ効果) を補正する必要がある。海産物から全ての炭素を摂取していたとすると、日本海では400年ほど古い未較正放射性炭素年代が見かけ上示されると考えられる

(Yoneda et al. 2007, Yoshida et al. 2010)。表3に海産物摂取の影響を考慮しない場合、50%の炭素が海産物に由来する場合、100%の炭素が海産物に由来する場合の較正炭素年代を示す。安定同位体比の分析からは、海産物由来50%程度と推定されるが、海産物の寄与率を0~100%まで想定したとしても、縄文時代前期という枠組みからは大きくずれない。

## 謝辞

試料採取に際しては、奈良貴史先生に大変多くの便宜を賜った。記して謝意を表する。

## 参考文献

- Ambrose, S.H. (1993). Isotopic analysis of paleodiet: Methodological and interpretive considerations. In M.K. Sandford (ed.): Investigation of Ancient Human Tissue: Chemical Analyses in Anthropology. Langhorne: Gordon and Breach, pp. 59-130.
- Bronk Ramsey, C. (2009). Bayesian analysis of radiocarbon dates. Radiocarbon 51(4): 337-360.
- DeNiro, M.J. (1985). Postmortem preservation and alteration of in vivo bone-collagen isotope ratios in relation to paleodietary reconstruction. Nature 317: 806-809.
- Kitagawa, H., T. Masuzawa, T. Nakamura T, and Matsumoto E (1993). A batch preparation method for graphite targets with low-background for AMS C-14 measurements. Radiocarbon 35: 295-300.
- Kobayashi, K., E. Niu, S. Itoh, H. Yamagata, Z. Lomtadze, I. Jorjoliani, K. Nakamura and H. Fujine (2007). The compact 14C AMS facility of Paleo Labo Co., Ltd., Japan. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B259: 31- 35.
- Longin, R. (1971). New method of collagen extraction for radiocarbon dating. Nature 230: 241-242.
- Minagawa, M., D.A. Winter, and I.R. Kaplan (1984). Comparison of Kjeldahl and combustion methods for measurement of nitrogen isotope ratios in organic matter. Analytical Chemistry 56(11): 1859-1861.
- Reimer, P.J., E. Bard, A. Bayliss, J.W. Beck, P.G. Blackwell, C. Bronk Ramsey, C.E. Buck, H. Cheng, R.L. Edwards, M. Friedrich, P.M. Grootes, T.P. Guilderson, H. Haflidason, I. Hajdas, C. Hatte, T.J. Heaton, D.L. Hoffmann, A.G. Hogg, K.A. Hughen, K.F. Kaiser, B. Kromer, S.W. Manning, M. Niu, R.W. Reimer, D.A. Richards, E.M. Scott, J.R. Southon, R.A. Staff, C.S.M. Turney, and J. van der Plicht (2013). IntCal13 and Marine13 radiocarbon age calibration curves 0–50,000 years cal BP. Radiocarbon 55(4): 1869-1887.
- Stuiver, M. and H.A. Polach (1977). Discussion: Reporting of 14C data. Radiocarbon 19(3): 355-363.
- Yoneda, M., A. Tanaka, Y. Shibata, M. Morita, K. Uzawa, M. Hirota, and M. Uchida, (2002). Radiocarbon marine reservoir effect in human remains from the Kitakogane site, Hokkaido, Japan. Journal of Archaeological Science 29(5): 529-536.
- Yoneda, M., H. Uno, Y. Shibata, R. Suzuki, Y. Kumamoto, K. Yoshida, T. Sasaki, A. Suzuki and H. Kawahata (2007). Radiocarbon marine reservoir ages in the western Pacific estimated by pre-bomb molluscan shells. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B259: 432-437.
- Yoshida, K., T. Hara, D. Kunikita, Y. Miyazaki, T. Sasaki, M. Yoneda, and H. Matsuzaki (2010). Pre-bomb marine reservoir ages in the Western Pacific. Radiocarbon 52: 1197-1206.
- van Klinken, G.J. (1999). Bone collagen quality indicators for palaeodietary and radiocarbon measurements. Journal of Archaeological Science 26: 687-6.

表 1. 田小屋野貝塚人骨における元素濃度と炭素・窒素同位体比

資料名	測定ID	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$	炭素濃度	窒素濃度	C/N比
Aトレ5号	YL03814	-18.0‰	11.0‰	40.5%	15.5%	3.1

表 2. 放射性炭素年代測定の結果

資料名	測定ID	管理ID	$^{14}\text{C}$ 年代	較正用 $\delta^{13}\text{C}$
Aトレ5号	PLD-24607	TKa-15884	4973±25 BP	-20.44±0.39 ‰

表 3. 田小屋野貝塚人骨の放射性炭素年代から推定される較正年代。海産物の寄与が0%と50%とした場合、100%とした場合を示す。

	較正年代(calBP: 1 標準偏差)				較正年代(calBP: 2 標準偏差)			
海洋寄与 0%	5720	—	5660	68.2%	5841	—	5835	0.7%
					5748	—	5642	93.0%
					5628	—	5616	1.7%
海洋寄与 50%	5581	—	5564	16.8%	5583	—	5475	95.4%
	5538	—	5485	51.4%				
海洋寄与 100%	5387	—	5377	5.0%	5425	—	5265	95.4%
	5348	—	5275	63.2%				

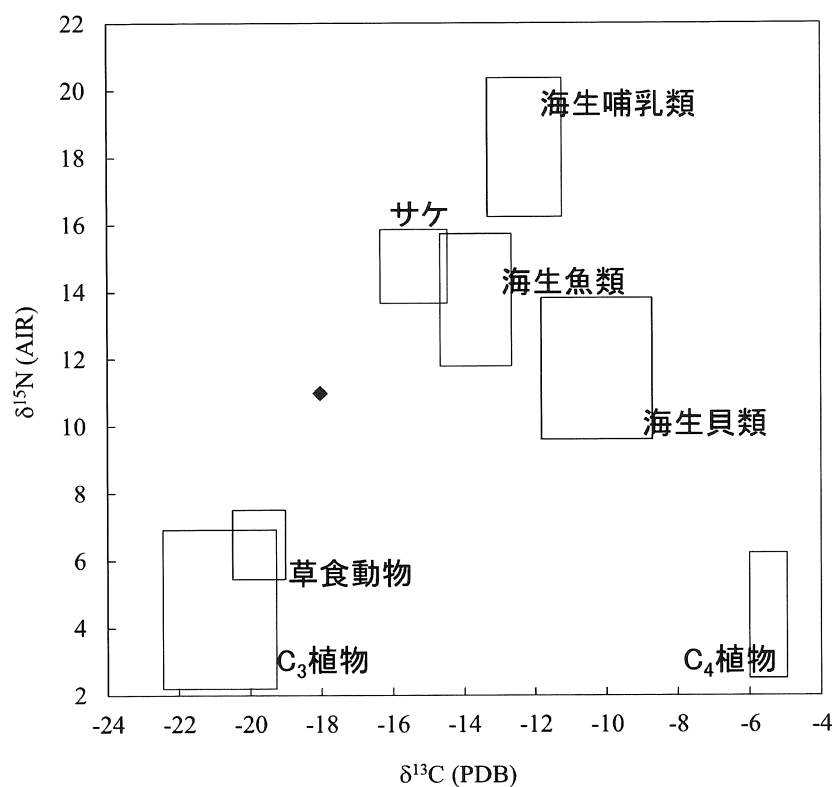


図 1. 田小屋野貝塚出土人骨のコラーゲンにおける炭素・窒素同位体比と推定される食資源の比較