

第2章 事前調査

1. 背景

近年、遺跡から出土する動物遺存体や古人骨の化学分析が盛んにおこなわれている。とくに、骨や歯に含まれるコラーゲンとハイドロキシアパタイトの同位体分析は、欧米を中心として精力的な研究が進められている。一方で、遺跡出土の骨や歯は、埋没中に堆積土壌に含まれる有機物および無機物を吸着する場合があります、その動物が本来生体時に有していた生化学的情報が失われてしまうことがある。こうした汚染を受けた骨や歯は、化学分析を実施したとしても有効な結果を得ることが難しい。また、遺跡から出土する動物遺存体も貴重な文化財であるため、もし化学分析に適切な試料をあらかじめ選定することができれば、文化財のむやみな破壊を避けられることが可能となる。

そこで本章では、動物遺存体の本格的な化学分析を実施する前に、適切な試料を選別するための事前調査をおこなう。事前調査は、分析内容に応じて適切な調査を実施する必要がある。動物遺存体に対する化学分析については、分析対象によって有機物分析と無機物分析に大別することができる（図2-1）。

今日では一般的な分析手法となりつつある放射性炭素年代測定や食性分析といった有機物分析は、骨に含まれるコラーゲンが主に分析対象となる。ただし、日本列島は温暖湿潤で酸性土壌の地域が多く、遺跡から出土する骨の保存状態は必ずしも良いとは言えず、出土資料にコラーゲンが全く残存していない場合もある。そこで本分析を実施する前に、有機物分析に適していない試料を本分析の対象から外すため、ごく少量の試料からコラーゲンの残存量を評価する。

無機物分析としては、歯のエナメル質を用いた同位体化学分析がある。この分析は主にエナメル質中に含まれるハイドロキシアパタイトを分析対象としており、動物遺存体の移動履歴や雑穀類の摂取率推定など生態学的情報を検討することが可能である。この分析に対する事前調査は、歯エナメル質の元素濃度や結晶成分を測定し、生体時に哺乳類がとり得る範囲を逸脱していないかを検討することによって、無機物分析に適した試料であるかを判断する。

これらの評価法は主に欧米において実践されてきてはいるものの、日本国内における適用例はまだ無いのが現状である。

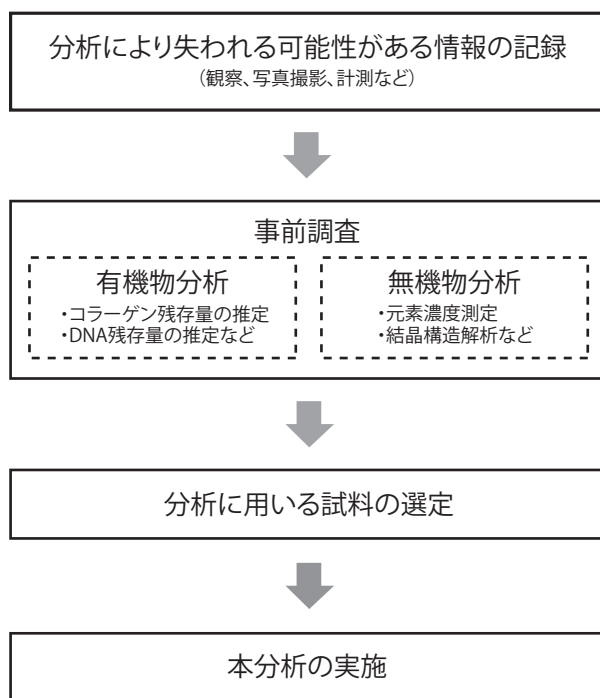


図2-1 事前調査の工程

2. 目的

藤原宮跡から出土する動物遺存体は、運河 SD1901A のように水浸状態の堆積環境で保存状態の良い資料だけでなく、礫敷広場 SH10800 のように保存状態の悪い資料まで含まれている。骨の劣化によって、生体時の構成元素や分子に変化が生じ、同位体比にも影響が出ている可能性がある。また、1977 年に実施された飛鳥藤原第 20 次調査でも同じ運河 SD1901A から多くの動物遺存体が出土している。出土から 30 年以上経過した資料では、動物遺存体に含まれる生化学的情報が失われてしまう可能性がある。

そこで、藤原宮跡から出土した動物遺存体に事前調査を実施し、同位体分析を実施する際に問題となる土壌由来成分の汚染および続成作用の評価を試みた。その結果に基づいて、本格的な同位体化学分析（以下、「本分析」とする）を実施する前に、動物遺存体の保存性の評価と本分析を実施する出土資料の選定をおこなった。

3. 試料

事前調査に用いた試料は、飛鳥藤原第 20 次の出土資料 2 点と飛鳥藤原第 153 次の出土資料 6 点である（表 2-1）。第 153 次調査では、保存状態の異なる資料を比較するために、保存状態の良い運河 SD1901A の出土資料と保存状態の悪い礫敷広場 SH10800 出土資料を分析対象とした。また、同じ堆積環境での経年変化を検討するために、第 20 次調査（1977 年実施）と第 153 次調査（2008 年実施）で運河 SD1901A から出土した資料を分析対象とした。コラーゲンの残量評価のためにウマの骨 3 点、ウシあるいはウマの骨 1 点、ニホンジカの骨 1 点、ハイドロキシアパタイトの保存状態の評価のためにウマの歯 3 点から試料を採取した。

4. 方法

藤原宮跡から出土した馬の同位体化学分析を実施するにあたって、コラーゲンの残存量評価とエナメル質の元素濃度および結晶構造解析を事前調査として実施した。

まず事前調査をおこなう動物遺存体について、写真撮影と計測をおこない、本分析によって失われる可能性のある情報を記録した。そして、分析前と分析後の写真を撮影し、事前調査において失われ

表 2-1 事前調査に用いた藤原宮跡出土の動物遺存体

資料番号	分析番号	遺構	時期	分類群	部位	左右	部分	組織
153-86	TG102201	SH10800	藤原宮期	ウマ	遊離歯	不明	歯種不明	歯エナメル質
153-42	TG102202	SD1901A	藤原宮造営期	ウマ	遊離歯	右	下顎歯 (P4/M1/M2)	歯エナメル質
153-53	TG102204	SD1901A	藤原宮造営期	ウマ	遊離歯	右	上顎歯 (M3)	歯エナメル質
153-29	TG102206	SD1901A	藤原宮造営期	ウマ	下顎骨	左右		骨
153-28	TG102207	SD1901A	藤原宮造営期	ニホンジカ	肩甲骨	左	関節窩	骨
153-10	TG102208	SD1901A	藤原宮造営期	ウマ	上腕骨	左	遠位端	骨
20-1	TG102209	SD1901A	藤原宮造営期	ウマ	下顎骨	右		骨
20-2	TG102210	SD1901A	藤原宮造営期	ウシ・ウマ	四肢骨	不明	骨片	骨

る形態情報の記録につとめた。試料全体のレプリカ作成は試料破損が生じる可能性があるため、今回の事前調査では試料採取部位に限定した箇所局所表面レプリカの作成にとどめた。

(1) コラーゲンの残存量評価

コラーゲン抽出率の推定に関する研究は窒素・炭素含有量に基づく推定方法が既に報告されている (Brock et al. 2012)。歯や骨に含まれる成分は、無機物質のヒドロキシアパタイトや、有機物質の多糖類、脂質、そしてタンパク質の中でもコラーゲンおよび非コラーゲン性タンパク質 (オステオカルシン、フォスフォフォリンなど) があり、とくにヒドロキシアパタイトとコラーゲンの含有量がその多くを占めている。コラーゲン分子に含まれる元素は、炭素、窒素、酸素、水素、硫黄であり、とくに窒素および炭素の含有率と骨コラーゲン抽出率の間には有意な相関関係がある。これらの先行研究を藤原宮跡出土獣骨に適用し、コラーゲン抽出率の推定を試みた。

デンタルドリルを用いて表面の土壌を除去し、骨表面を約 1mm 除去した。表面を除去した骨試料から約 5-10mg の骨粉を採取した。その内の約 2mg を元素分析用のスズカプセルに包み、元素分析計 (Flash 2000, Thermo) で炭素、窒素含有率を算出した。元素分析用の炭素、窒素の標準物質は、コラーゲンを構成する炭素含有率および窒素含有率の近いアトロピンを使用した。アトロピン 3 点の測定結果に基づく内挿補正法で、未知試料の炭素含有率および窒素含有率を算出した。

得られた元素含有率からコラーゲン抽出率を推定するために、日本の遺跡出土試料をリファレンスデータとして採用した (東京大学総合研究博物館米田研究室 未発表データ)。リファレンスデータに基づき、炭素含有率および窒素含有率からコラーゲン抽出率の推定式を作成し、推定式に藤原宮跡出土獣骨の値を代入してコラーゲン抽出率を算出した。

(2) 歯エナメル質における続成作用の評価 (Sr 濃度測定)

哺乳類の骨および歯のストロンチウムは、生体では 25ppm ~ 600ppm の濃度範囲をとり (Rosenthal et al. 1972)、遺跡から出土した動物遺存体にそれ以上のストロンチウムが検出された場合は、土壌由来のストロンチウムの汚染を考慮する必要がある。これらの汚染は酢酸バッファーなどの弱酸溶液を用いることで、ある程度低減させることができるが、ストロンチウム同位体分析を効率よく実施する上では、これらの試料の分析は避けるべきである。

そこで、遺跡出土馬の歯エナメル質のストロンチウム濃度を測定し、汚染の相対的な評価を試みた。デンタルドリルを用いて歯セメント質を除去した後に、歯エナメル質から約 10mg の骨粉を採取した。採取した試料は、2.5 % 次亜塩素酸ナトリウムに室温で 12 時間反応させた後に、超純水で中性に戻した。次に、0.1N 酢酸バッファー (pH 4.5) に常温で 12 時間反応させた後、超純水で中性に戻した。洗浄後、凍結乾燥させ、HF 分解法によって試料を完全溶解させた。溶解させた試料は、ICP 質量分析計 (ICPM-8500 島津製作所製) を用いてストロンチウム濃度を測定した。

(3) 歯エナメル質における続成作用の評価 (成分分析)

哺乳類の骨および歯に含まれるヒドロキシアパタイトは、主に $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{OH}_2$ の分子式で表され、リン酸基 (PO_4^{3-}) と水酸基 (OH) に酸素が含まれている。とくにリン酸基の酸素原子は、ヒドロキシアパタイトの結晶構造で主要な分子骨格部にあたる。土壌由来の地下水に含まれる溶存イオンの

影響によって、ハイドロキシアパタイトとは異なるリン酸基を含んだ二次的な鉱物が結晶成長する可能性がある。この場合、これらの結晶状態および結晶成分が変化して、酸素同位体比に変動がみられることがある（McArthur and Herczeg 1990）。

より正確な酸素同位体比を測定するためには、リン酸基の結晶構造が生体時における結晶状態から逸脱しているかを評価する必要がある。リン酸基の結晶構造の評価法は、赤外光を透過させることでリン酸基特有の赤外光吸収波長を検出し、それらの波長が生体時の吸収波長域の範囲に収まるかを検証するものである。そこで、フーリエ変換赤外分光光度計（FT-IR）を用いて、歯エナメル質のリン酸基の結晶構造を評価することを試みた。

デンタルドリルを用いて歯エナメル質から約 2mg の骨粉を採取した。採取した試料は、2.5 % 次亜塩素酸ナトリウムに室温で 12 時間反応させた後に、超純水で中性に戻した。次に、0.1N 酢酸バッファー（pH 4.5）に室温で 12 時間反応させた後、超純水で中性に戻した。洗浄後、凍結乾燥させ、KBr（臭化カリウム）と混合して測定用カプセルを作成した。リン酸基の吸収波長の検出は、FT-IR（日本分光株式会社製 FT-IR-610）を用いた。 $\nu_4\text{PO}_4$ のピーク相対強度は、Weiner *et al.*（1993）の方法に基づいて算出し、クリスタリニティ・インデックス（Crystallinity Index: CI）を求めた。

5. 結果

コラーゲンの残存量を評価するために、元素分析計を用いてタンパク質の構成成分である窒素の含有率を測定した。元素分析計で測定された窒素含有率は 0.25 ~ 2.03 %、炭素含有率は 2.72 ~ 8.52 % であった（表 2-2）。

次に、歯エナメル質の結成作用を評価するため、Sr 濃度測定を実施した。その結果、測定試料のストロンチウム濃度は 400ppm ~ 870ppm であった（表 2-3）。礫敷広場 SH10800 から出土した No.153-86（TG102201）は、生体の歯エナメル質に含まれるストロンチウム濃度の範囲を明らかに超えた値を示した。

表 2-2 藤原宮跡出土動物遺存体の炭素・窒素含有率

資料番号	分析番号	遺構	時期	分類群	部位	左右	試料量 (mg)	窒素含有率 (%)	炭素含有率 (%)
153-29	TG102206	SD1901A	藤原宮造営期	ウマ	下顎骨	左右	2.40	0.25	2.72
153-28	TG102207	SD1901A	藤原宮造営期	ニホンジカ	肩甲骨	左	2.29	2.03	8.52
153-10	TG102208	SD1901A	藤原宮造営期	ウマ	上腕骨	左	3.15	1.07	5.7
20-1	TG102209	SD1901A	藤原宮造営期	ウマ	下顎骨	右	1.97	1.24	6.93
20-2	TG102210	SD1901A	藤原宮造営期	ウシ・ウマ	四肢骨	不明	2.09	0.82	5.72

表 2-3 藤原宮跡出土動物遺存体のストロンチウム濃度

資料番号	分析番号	遺構	時期	分類群	部位	左右	部分	採取量 (mg)	Sr concentration (ppm)
153-86	TG102201	SH10800	藤原宮期	ウマ	遊離歯	不明	歯種不明	7.5	870
153-42	TG102202	SD1901A	藤原宮造営期	ウマ	遊離歯	右	下顎歯 (P4/M1/M2)	8.1	400
153-53	TG102204	SD1901A	藤原宮造営期	ウマ	遊離歯	右	上顎歯 (M3)	9.3	490

最後に、歯エナメル質の構成成分を評価するため、測定試料のリン酸基のピークに基づいてクリスタリニティ・インデックス (CI) を求めた。CIはNo.153-86 (TG102201) で3.2、No.153-53 (TG102204) で2.66であった (表2-4、図2-2、図2-3)。

表2-4 藤原宮跡出土動物遺存体のクリスタリニティ・インデックス

資料番号	分析番号	遺構	時期	分類群	部位	左右	部分	試料採取量 (mg)	CI. (クリスタリニティ・ インデックス)
153-86	TG102201	SH10800	藤原宮期	ウマ	遊離歯	不明	歯種不明	2.3	3.23
153-53	TG102204	SD1901A	藤原宮造営期	ウマ	遊離歯	右	上顎歯 (M3)	2.1	2.66

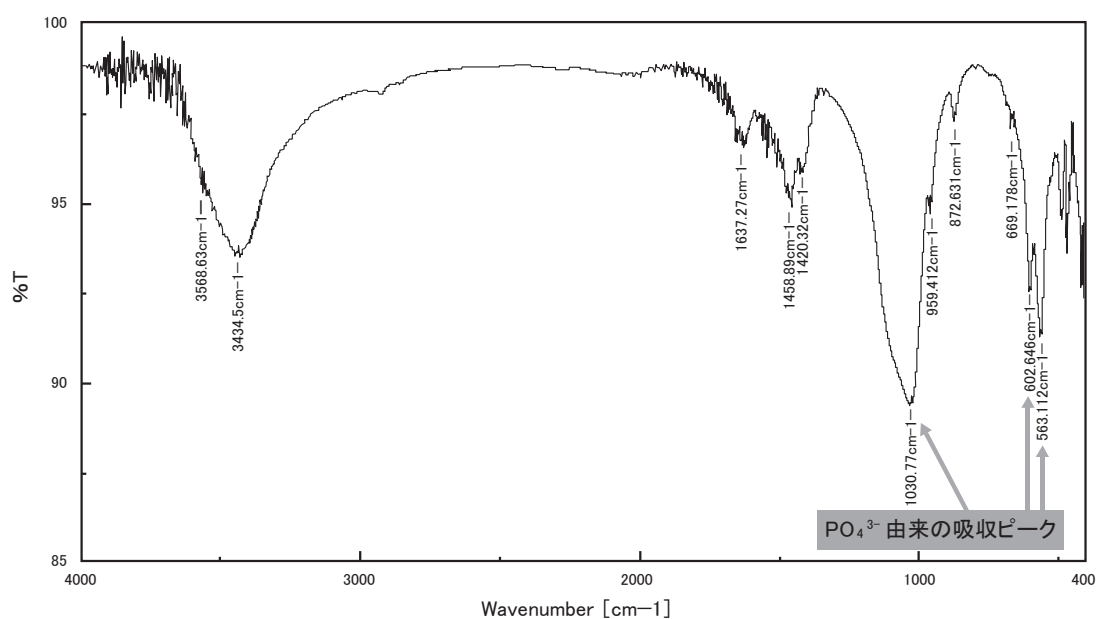


図2-2 No.153-86 (TG102201) の赤外光吸収波長

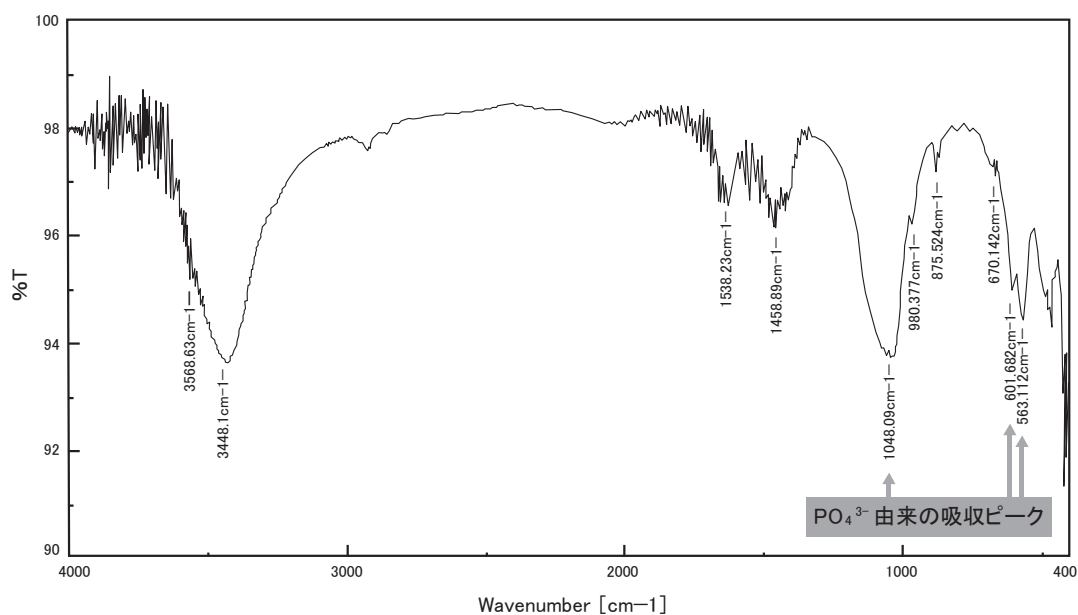


図2-3 No.153-53 (TG102204) の赤外光吸収波長

6. 考察

(1) コラーゲン抽出率の推定

測定で得られた炭素含有率および窒素含有率を、リファレンスデータに基づいた炭素、窒素含有率とコラーゲン抽出率の線形回帰式（図 2-4、図 2-5）に代入した結果、推定されたコラーゲン抽出率は1.36～8.08 %の範囲に推定され、平均値は5.16 %、標準偏差は2.47 %であった（表 2-5）。

これらの結果は、骨中に窒素が1 %以上含有しており、本分析に必要なコラーゲン量がほぼすべての試料から抽出できる可能性を示唆している。藤原宮跡出土獣骨の炭素、窒素含有率は、これまで日本列島の22遺跡で得られた既知コラーゲン抽出率試料のデータセットに基づく場合、コラーゲン抽

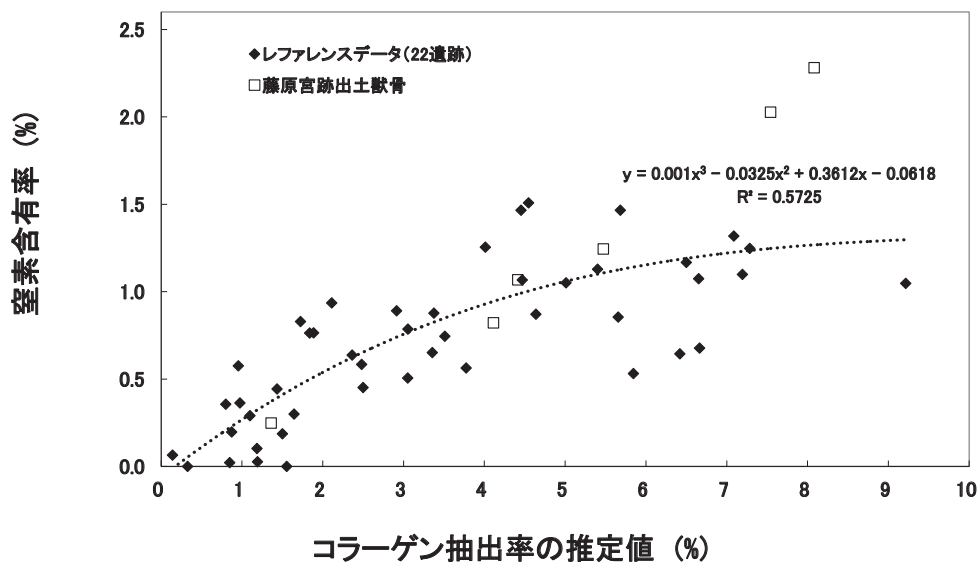


図 2-4 窒素含有率に基づくコラーゲン抽出率の推定

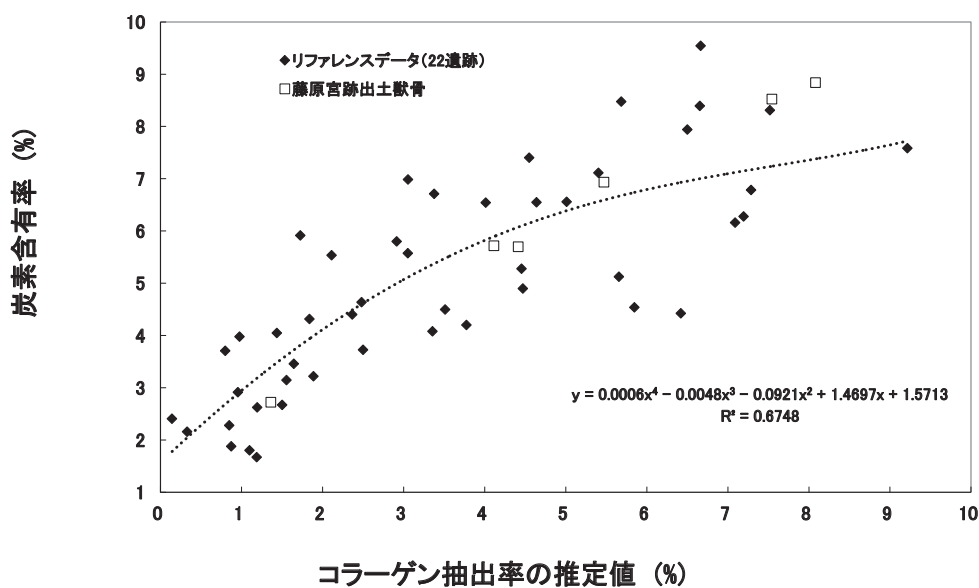


図 2-5 炭素含有率に基づくコラーゲン抽出率の推定

表2-5 藤原宮跡出土動物遺存体の炭素・窒素含有率から推定されたコラーゲン抽出率

資料番号	分析番号	遺構	時期	分類群	部位	左右	窒素含有率 (%)	炭素含有率 (%)	コラーゲン抽出率 推定値 (%)
153-29	TG102206	SD1901A	藤原宮造営期	ウマ	下顎骨	左右	0.25	2.72	1.4
153-28	TG102207	SD1901A	藤原宮造営期	ニホンジカ	肩甲骨	左	2.03	8.52	7.5
153-10	TG102208	SD1901A	藤原宮造営期	ウマ	上腕骨	左	1.07	5.7	4.4
20-1	TG102209	SD1901A	藤原宮造営期	ウマ	下顎骨	右	1.24	6.93	5.5
20-2	TG102210	SD1901A	藤原宮造営期	ウシ・ウマ	四肢骨	不明	0.82	5.72	4.1

抽出率は平均で約5%を示した（覚張未公表データ）。また、試料によってはコラーゲン抽出率が1%付近を示した（表2-5を参照）。この結果は、コラーゲンをを用いた年代測定および同位体分析に用いる際に、土壌からの有機物の汚染程度が非常に低く、出土した動物が生存時に代謝した炭素および窒素の同位体比を保持している可能性が高い。したがって、実施予定である骨コラーゲンによる炭素・窒素同位体分析の材料となりうることが示された。

事前調査によって得られた興味深い結果として、推定されたコラーゲン抽出率が極めて高い点がある。炭素・窒素同位体分析は放射性炭素年代測定と合わせて実施される場合が多く、少なくとも約3mgのコラーゲンが必要である。今回の結果に基づくと、平均で約5%のコラーゲン含有率と推定されており、コラーゲン抽出に必要な試料量（骨）は約0.06gとなる。これは、従来の分析に必要とされた試料量である約0.5gに対して、約1/10の試料量で分析可能であることを示唆している。これまで研究機関や民間分析会社で骨コラーゲンをを用いた炭素・窒素同位体分析を実施する場合には、骨コラーゲンの放射性炭素年代測定とあわせた試料量として0.5gが採取されていた。しかし、帰属時期が明確で炭素・窒素同位体分析のみを実施する場合は、出土状況や研究目的に応じてさらに分析に必要な試料量を減らすことが可能である。例えば、コラーゲンの炭素・窒素同位体分析のみでは、必要とされるコラーゲン量は約500 μ gであり、藤原宮跡出土動物骨からこのコラーゲン量を得るためには、約0.01gで可能となる。これは従来の分析量に対して約1/50になり、さらなる試料の破壊を避けることが期待される。

今回の分析は5点の骨試料であったが、藤原宮跡出土骨試料において、コラーゲンの同位体分析に適する試料が他にも多く存在すると考えられる。また、コラーゲンやDNAなどの骨中の有機物の多くは、出土直後の含有量が最も多く、その後急速に減少する（Pruvost *et al.* 2007）。事前調査では、発掘されてから30年以上経過した試料も分析に用いたが、それでもなお多くのコラーゲンが残存する可能性が示唆された。また、埋没環境下において、骨よりも有機物の保存性が高い歯の象牙質では、本分析で得られたコラーゲン抽出率よりもさらに高い値を示すことが期待される。このように、藤原宮跡の出土資料は、歯や骨の有機物分析に比較的適しており、同位体分析による信頼性の高い生態復元が可能であると期待される。

(2) 歯エナメル質におけるストロンチウムの残存量と続成作用の評価

エナメル質のストロンチウム濃度を測定し、藤原宮跡から出土した馬歯エナメル質からストロンチウム同位体比測定が可能であるかを評価した。表面電離型質量分析計（TIMS）及びマルチコレクター型プラズマ誘導同位体比質量分析計（MC-ICP-MS）でストロンチウム同位体比を測定する際、約100ngのストロンチウムが要求される。本分析で得られたストロンチウム濃度は、この要求量を満

たす試料であった。

次に、生体時にとり得るストロンチウム濃度から逸脱していないか評価をおこなった。その結果、藤原宮跡出土の動物遺存体には、ストロンチウム濃度が現生哺乳類の範囲（50～700ppm）から逸脱しない試料が多く認められたが、あわせて分析に適さない試料（礫敷広場 SH10800 出土の No.153-86）も検出された。また、フーリエ変換赤外分光光度計を用いて、エナメル質の結晶状態を評価した。その結果、エナメル質の主要成分であるハイドロキシアパタイトの特徴といえるリン酸基（ PO_4^{3-} ）の特徴を示す波形結果が得られ、ストロンチウム濃度の結果と同様に、現生哺乳類の範囲から逸脱した試料と逸脱しなかった試料の両者が検出された。

このように、事前調査では、礫敷広場 SH10800 出土の No.153-86 が無機元素の同位体分析に適さない可能性が指摘でき、より精度の高い遺跡出土動物の生態復元が可能になると期待される。

7. まとめ

本章では、藤原宮跡から出土した動物遺存体の同位体化学分析に用いる試料を選定するための事前調査をおこなった。その結果、藤原宮跡出土の動物遺存体は、有機物および無機物ともに同位体化学分析に適する試料が得られる可能性が高いことが示された。そして同時に、分析に適さない試料の存在も把握することができた。こうした試料は、本分析をおこなわないことによって不必要な破壊を避けており、次章以降で扱った本分析の試料は、これらの基準を満たすものを対象としている。

（覚張隆史・山崎健・降幡順子・石橋茂登・米田穰）

表2-6 事前調査と本分析に必要な試料量

事前調査		本分析
有機物分析 (骨)	2mg (残存量の評価)	500mg (放射性炭素年代測定・ 炭素同位体分析)
無機物分析 (歯エナメル質)	2mg (残存量・続成作用の評価)	10mg (炭素同位体分析・ ストロンチウム同位体分析・ 酸素同位体分析)

引用文献

- Brock, F., Wood, R., Higham, T. F. G., Ditchfield, P., Bayliss, A., Ramsey, C. B. (2012) Reliability of Nitrogen Content (% N) and Carbon:Nitrogen Atomic Ratios (C:N) as Indicators of Collagen Preservation Suitable for Radiocarbon Dating. *Radiocarbon*. 54. pp. 879-886
- McArthur, J. M. and Herczeg, A. (1990) Diagenetic stability of the isotopic composition of phosphate-oxygen: palaeoenvironmental implications. *Geological Society*. 52. pp. 119-124
- Pruvost, M. R., Schwarz, R., Bessa Correia, V., Champlot, S., Braguier, S., Morel, N., Fernandez-Jalvo, Y., Eva-Maria Geigl, T. (2007) Freshly excavated fossil bones are best for amplification of ancient DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 104. pp.739-

744

Rosenthal, H. L., Conchban, O. A., Eves, M. M. (1972) Strontium Content of Mammalian Bone, Diet and Excreta. *Environmental Research*. 5. pp. 182-191

Weiner, S., Goldberg, P., Bar-Yosef, O. (1993) Bone preservation in Kebara Cave, Israel using on-site Fourier transform infrared spectroscopy. *Journal of Archaeological Science*. 20. pp. 613-627