ЕЖЕГОДНИК-2008, Тр. ИГГ УрО РАН, вып. 156, 2009, с. 290–295

ТЕРМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ИСКОПАЕМЫХ КОСТНЫХ ОСТАТКОВ МЕЛКИХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ КАК ОСНОВА ДЛЯ ОЦЕНКИ ИХ ОТНОСИТЕЛЬНОГО ВОЗРАСТА

С. Л. Вотяков, Н. О. Садыкова, Н. Г. Смирнов

Кости позвоночных животных на 25–30% состоят из органического материала, главным образом белка коллагена; неорганическая составляющая – карбонат-содержащий фосфат кальция – плохоокристаллизованный карбонат-гидроксилапатит. После смерти и последующего захоронения в осадках начинается процесс гидролитической деградации органических компонентов и преобразования неорганических составляющих; последние, благодаря высокой пористости костей, находятся в состоянии химического обмена с окружающей осадочной средой. Процессы деградации и обмена сильно зависят от химического и гидрологического состояния среды, от температурных условий; на изучении этих процессов основаны методики относительного датирования ископаемых костных остатках и реконструкций среды, в которой происходило формирование отложений [2]. Ряд методик оценки относительного возраста остатков основан на определении содержания и характера сохранившейся в них органической компоненты [12], причем ключевую роль в ее определении играет термический анализ. Применение современного оборудования для анализа термических характеристик костных тканей, состава выделяющихся при термообработке продуктов позволяет на новом уровне подойти к решению вопроса об особенностях деградации органической компоненты кости и степени преобразования ее неорганической составляющей.

В костной (зубной) ткани млекопитающих фиксируются парамагнитные ион-радикалы; они образуются как при радиационном воздействии на материал, так и в ходе термохимических реакций в органической компоненте тканей – при ее термообработке в природных (лабораторных) условиях. Радиационно-стимулированные механизмы образования ион-радикалов изучены достаточно детально. В частности, для костных и зубных тканей зафиксировано образование радиационных карбонатных ион-радикалов CO_n^{m-} за счет естественного гамма-фона *in vivo* или в лабораторных условиях *in vitro* вследствие перезарядки карбонатных группировок, присутствующих в минеральной компоненте этих тканей – в структуре биоминерала апатита или на поверхности его наноразмерных глобул (данное явление нашло широкое применение в ретроспективной палеодозиметрии [1, 4, 10, 11]). Процессы термостимулированного образования ион-радикалов в органической компоненте органоминеральных агрегатов, в особенности, природного происхождения, практически не изучены.

Цель работы – исследование термических характеристик (потери массы, термоэффектов и термохимических ион-радикалов) ископаемых костных остатков мелких млекопитающих, концентрирующихся в результате деятельности хищников (т.н. зоогенных отложений) в карстовых полостях Уральского региона четвертичного периода при вариациях длительности и условий их захоронения (фоссилизации), приложение результатов к оценкам их относительного возраста.

Объекты и методы исследования. Исследована серия костных остатков (нижних челюстей и зубов) разных видов грызунов (водяной полевки – *Arvicola terrestris,* копытного лемминга – *Dicrostonyx torquatus* и др., всего 180 проб) с разных глубин залегания и возраста захоронений (от современных до ископаемых позднечетвертичного возраста) из зоогенных отложений в карстовых полостях различных местонахождений Северного и Среднего Урала [7]; проанализированы различные участки челюстей – диастема и венечные отростки. Термический анализ проведен на ТГ-ДТА-анализаторе Diamond TG-DTA и ДСК-анализаторе Jupiter, связанном с масс-спектрометром Aeolos (Netzsch). ЭПР эксперименты выполнены на радиоспектрометре X-диапазона ESR 70/DX при 300K; для индуцирования ион-радикалов костные остатки отжигались на воздухе при температурах от 100 до 800°C.

Термические свойства. На рис. 1 приведены типичные дериватограммы для костных и зубных остатков, на которых фиксируются массовые потери в четырех (25–230, 230–400, 400–600 и 700–900°C далее A, B_1, B_2, C) основных температурных диапазонах; следуя [5, 6], этап A соответствует потере тканью адсорбционной воды; этап B_1 обусловлен испарением структурной воды и "горением" преимущественно низкомолекулярных органических веществ (далее B_1-фракция органики – неколлагеновые белки с низкой молекулярной массой – альбумин и др.); B_2-этап – горением высокомолекулярной органики, преимущественно коллагена (далее B_2-фракция); C этап – переходом нестехиометричного низкокристаллического карбонат-гидроксилапатита, образующего неорганическую

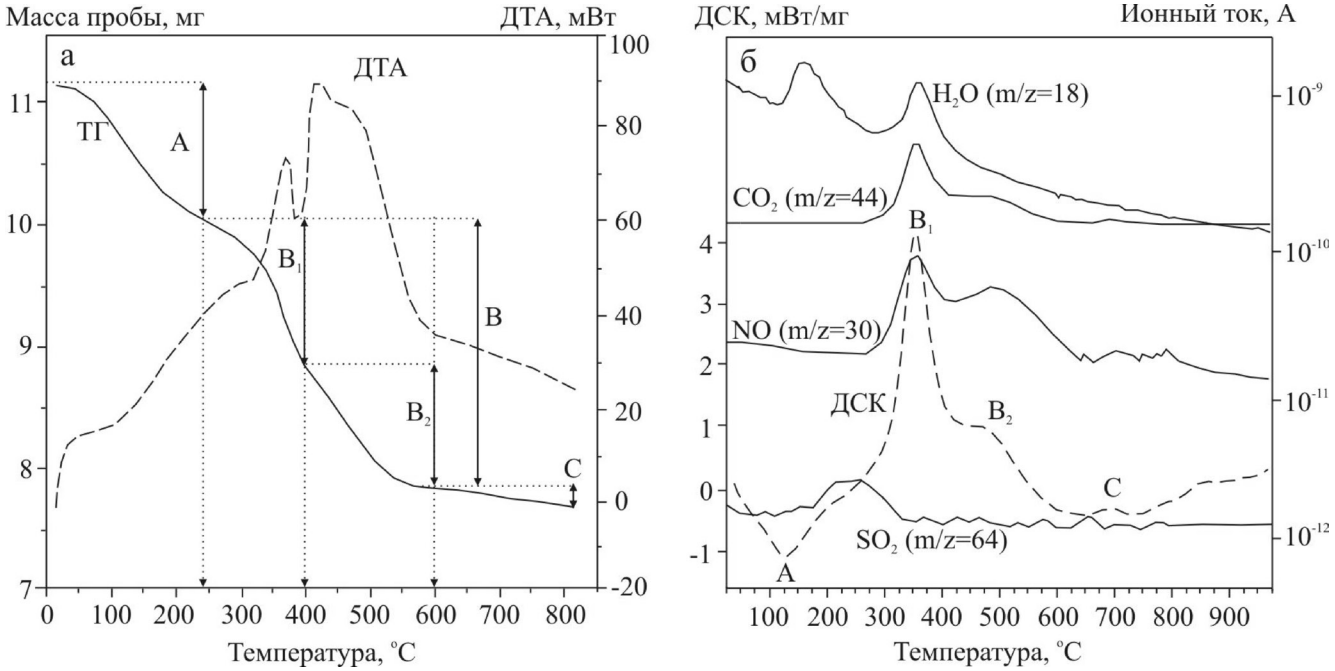

Рис. 1. Типичные дериватограммы фрагмента нижней челюсти водяной полевки (*Arvicola terrestris*) из поверхностных отложений местонахождения Кыбла 2, горизонт 1 (а) и первого нижнего щечного зуба M_1 копытного лемминга (*Dicrostonyx torquatus*) с наложением спектров синхронного масс-спектрометрического анализа выделившихся газов (б).

составляющую кости (зуба), в стехиометричный. Выгорание органики происходит немонотонно (рис. 1), причем на первом B_1-этапе горение идет наиболее интенсивно, и потеря массы происходит с высокой скоростью; на втором B_2-этапе процесс замедляется и с меньшей интенсивностью продолжается до температуры 550–600ºС. Потери массы при температурах ниже и выше 400ºС заметно различаются у разновозрастных образцов костных (зубных) остатков; существенно варьирует по пробам и доля высокотемпературной B_2-фракции органики (рис. 2).

Проанализирован состав продуктов, выделяющихся при разложении костных (зубных) остатков; установлено, что по содержанию (интенсивности ионного тока) выделяющиеся газы образуют следующий ряд – H_2O>CO_2>NO>SO_2. Выделение газообразной воды, оксидов углерода и азота происходит синхронно с горением органической матрицы (230–600ºС); масс-спектры CO_2 и NO, в целом, повторяют профили кривой ДСК (двухэтапное горение органики), в то время как пика выхода воды, соответствующего разложению органики на B_2-этапе, не наблюдается (при температуре выше 350ºС выделение газообразной H_2O убывает монотонно без выраженного максимума); это косвенно подтверждает факт наличия менее упорядоченной, низкомолекулярной B_1-фракции органики, слабые водородные связи в которой разрываются при более низких температурах, и водород выделяется с образованием воды. На масс-спектре H_2O также выделяется пик при температурах в области 150ºС; заметим, что в [6] была предпринята попытка связать термодесорбцию воды в синтетическом гидроксилапатите с ее кристаллохимическим состоянием: первый термодесорбционный пик при 100–300ºС был соотнесен с прочно хемосорбированной водой на пористой поверхности гидроксилапатита, а второй в области 350ºС – с кристаллогидратной водой, входящей в структуру гидроксилапатита по реакции

$$Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2 \cdot nH_2O \rightarrow Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2 + nH_2O.$$

На масс-спектре CO_2 кроме пиков, соответствующих разрушению органической матрицы, синхронно с экзопиком на ДСК фиксируется слабый максимум при температуре порядка 700ºС, по-видимому, обусловленный выделением CO_2 из структуры нестехиометричного низкокристаллического карбонат-гидроксилапатита по реакции

$$Ca_{10}(PO_4,CO_3)_6(OH)_2 \rightarrow Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2 + 6CO_2\uparrow.$$

Обращает на себя внимание термическое выделение SO_2: низкотемпературный пик в области 280ºС с горением органики явно не коррелирует, т.е. выделение SO_2, по-видимому, напрямую не связано со структурой костной ткани, а обусловлено разложением гуминовых веществ (?), адсорбированных из окружающей почвы. Таким образом, процессы, происходящие при термообработке ископаемых костных фрагментов сложны и разнообразны; они включают реакции окисления, десорбции и др., характеризующиеся различными термодинамическими характеристиками.

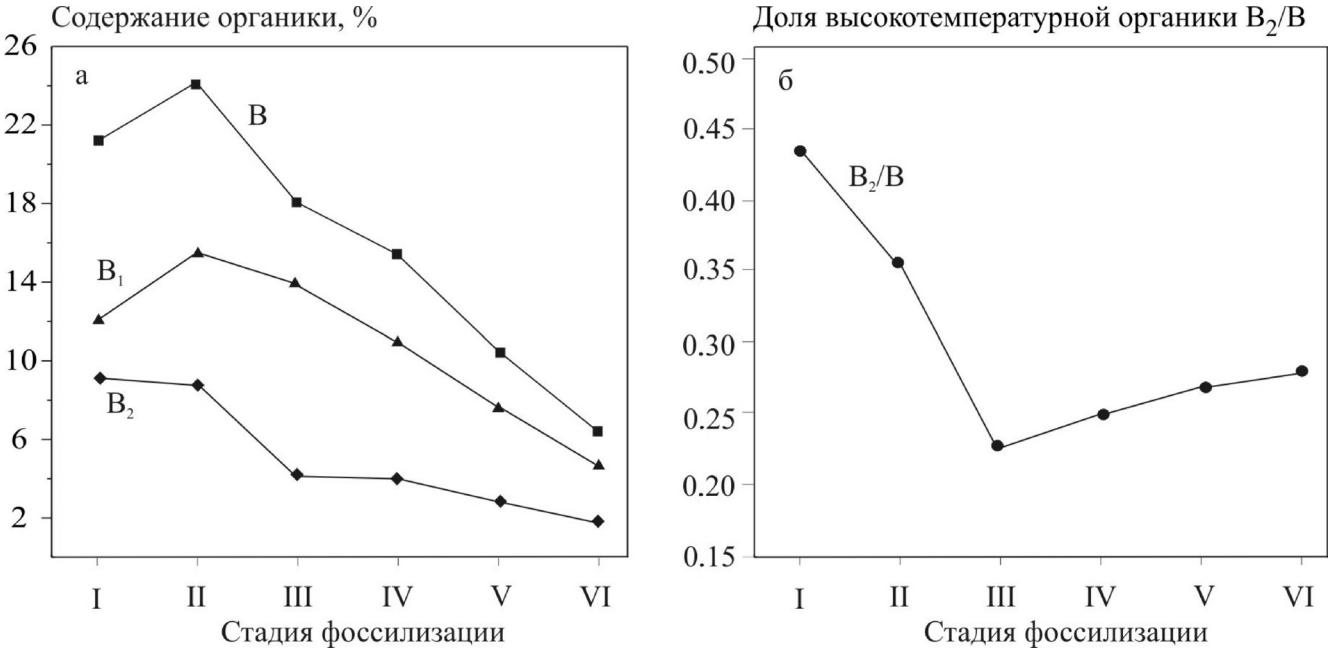

Рис. 2. Вариации содержания органического вещества (а) и доли ее высокотемпературной составляющей (б) в нижнечелюстных костях грызунов плейстоценового и голоценового возраста, находящихся на разных (I-VI) стадиях фоссилизации.

B – суммарное содержание органики; B_1, B_2 – содержание низко- и высокотемпературной составляющей, соответственно.

По термическим данным предложен ряд диаграмм, которые позволяют сопоставлять возраст и условия захоронения, выявлять пространственную и временную "смешанность" ископаемого материала; сделан вывод, что термические свойства остатков – индикатор степени количественной деструкции их органической компоненты. Установлено, что для костных фрагментов из разновозрастных местонахождений характерен различный разброс значений содержания и состава органической компоненты. Во всех изученных синхронных местонахождениях разброс значений содержания органической компоненты не превышает 3% (для зубов) и 5–6% (для костных фрагментов). В тех случаях, когда для однотипных остатков из одного местонахождения фиксируется больший разброс значений содержания органики, можно говорить о большей (или меньшей) хронологической смешанности остатков в данном местонахождении. Достаточно необычна динамика изменения доли B_2-фракции органики по мере возрастания возраста отложений – стадии фоссилизации (рис. 2): установлено, что у относительно молодых костных остатков, близких к современности, эта доля принимает максимальные значения (до 0.4–0.5); но при этом оно может быть достаточно высоким и у наиболее древних остатков с низким общим содержанием органики; минимальная доля B_2-фракции фиксируются у остатков позднеплейстоценового возраста. Можно предположить, что в ходе диагенеза скорости разложения (деградации) низко- и высокотемпературной органики на разных стадиях фоссилизации различны: первоначально довольно быстро разлагается высокотемпературная органика и доля B_2-фракции падает, но при этом общее содержание органики уменьшается с меньшей скоростью, т.к. низкотемпературная органика на этих стадиях хорошо сохраняется. Затем скорости дегенерации низко- и высокотемпературной органики выравниваются, происходит постепенное общее убывание содержания органики, но доля B_2-фракции при этом может даже возрастать. На рис. 3 предпринята попытка качественно продемонстрировать предположение о разной скорости деградации низко- и высокотемпературной органики на разных стадиях фоссилизации: видно, что соответствующие им кривые B_1 и B_2 имеют разную кривизну, вследствие чего доля B_2-фракции немонотонно изменяется с ростом степени фоссилизации. Представляется, что величину этого отношения следует рассматривать как некую характеристику степени фоссилизации лишь при анализе относительно молодых образцов, близких к современности, в которых еще сохраняется значительная органическая компонента. У более древних остатков значения этого показателя варьируют в широких пределах у близких по возрасту образцов, и он уже не может быть использован в качестве некой характеристики степени фоссилизации и относительного возраста остатков. Можно говорить, что разложение органики в костных остатках идет наиболее интенсивно на начальном этапе фоссилизации: в первые 10 тыс. лет ее содержание сокра-

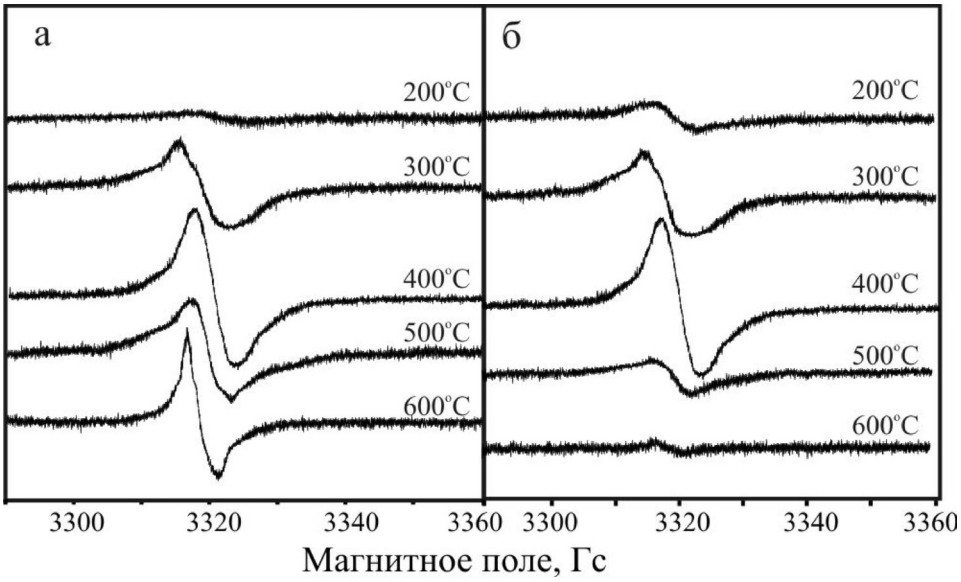

Рис. 3. Динамика изменения спектров ЭПР в образцах диастем *Arvicola terrestris,* Грот Филин (а) и *Dicrostonyx torquatus*, Дыроватый Камень, р. Чусовая (б) после отжига на воздухе при различных температурах.

щается почти на треть; затем этот процесс замедляется, и для того, чтобы ее содержание сократилось еще на треть, необходимо еще 40–50 тыс. лет. На основании оценок содержания органической компоненты в костных остатках грызунов, полученных из одного слоя нескольких местонахождений Северного и Среднего Урала, получены объективные свидетельства асинхронного происхождения остатков реликтов позднего плейстоцена в отложениях, датированных поздним голоценом.

Термохимические ион-радикалы. В исходных пробах парамагнитного поглощения не обнаружено; после лабораторного отжига костных остатков при температурах 200–700°C во всех пробах появляется сигнал ЭПР (далее термо-химический ион-радикал $R_{т/х}$) со значением g = (2.0055–2.0059) ± 0.0005 и шириной линии 5.5–9.3 Гс; форма сигнала близка к лоренцевой. Ранее [3, 8, 9] ион-радикалы с подобными параметрами, установленные в углях и керогенах, а также в некоторых метеоритах и термообработанных осадочных породах земного происхождения, содержащих рассеянное органическое вещество, были интерпретированы как связанные с дефектами органических макромолекул, в частности, в керогене – как радикал π-типа, связанный с его нерастворимой органической матрицей. Подобную модель можно предположить и для ион-радикала $R_{т/х}$ в ископаемых костных тканях. Установлено, что его концентрация на начальных (до 400–600°C) этапах отжига остатков возрастает до значений порядка 10^{17} спин/г (этап термостимулированного образования ион-радикала при перестройке химических связей в органике и ее окислении); при последующем отжиге содержание $R_{т/х}$ уменьшается (этап его деструкции, сопровождающий сгорание органики на воздухе); после отжига выше 735°C во всех пробах сигнал исчезает (рис. 3). Изменение парамагнитных свойств материала в диапазоне 100–700°C идет на фоне значительного (до 30%) уменьшения массы костной ткани вследствие потери адсорбированной (структурной) воды и окисления углеродной матрицы – выгорания органических веществ – при 230–400°C преимущественно низкомолекулярных, представленных неколлагеновыми белками с низкой молекулярной массой (альбумин и др.), и при 400–600 °C высокомолекулярных веществ, основным из которых является белок коллаген, составляющий органический каркас кости и определяющий ее структурные и механические свойства. Отсутствие ион-радикалов в исходных пробах свидетельствует о том, что деградация органической составляющей остатков при их захоронении (фоссилизации) в природных условиях не сопровождается разрывом связей в органических молекулах с формированием стабильных ион-радикалов. Лабораторный отжиг проб вызывает термохимические преобразования в органической составляющей – разрыв связей в коллагене и неколлагеновых белках с образованием стабильных ион-радикалов $R_{т/х}$ на их фрагментах. Парамагнитные ион-радикалы $R_{т/х}$ можно рассматривать как некие зонды термодинамических процессов в органической составляющей костных остатков, их появление и последующее исчезновение в процессе отжига сопровождает термоактивированное преобразование (сжигание) органики.

Установлено, что характерным свойством ион-радикала $R_{т/х}$, наряду с немонотонной концентрационной зависимостью в процессе отжига является изменение (уменьшение) величины его

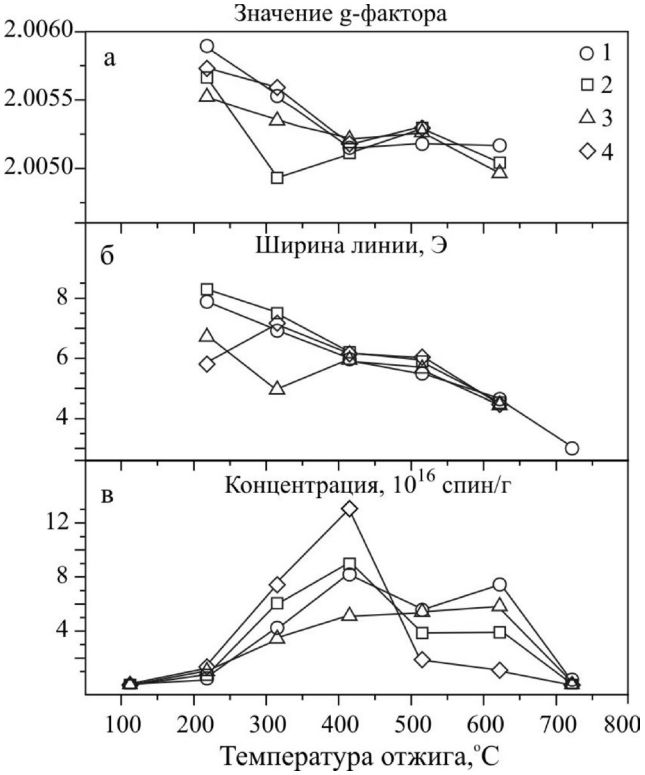

Рис. 4. Типичные зависимости значений g-фактора (а), ширины линии ЭПР (б), концентрация ион-радикалов $R_{т/х}$ (в) образцов диастем из местонахождений различного возраста от температуры отжига.

Кривые: 1, 3 – *Arvicola Terrestris,* Навес Старик; 2 – *Arvicola terrestris,* Грот Филин; 4 – *Dicrostonyx torquatus*, Дыроватый Камень, р. Чусовая.

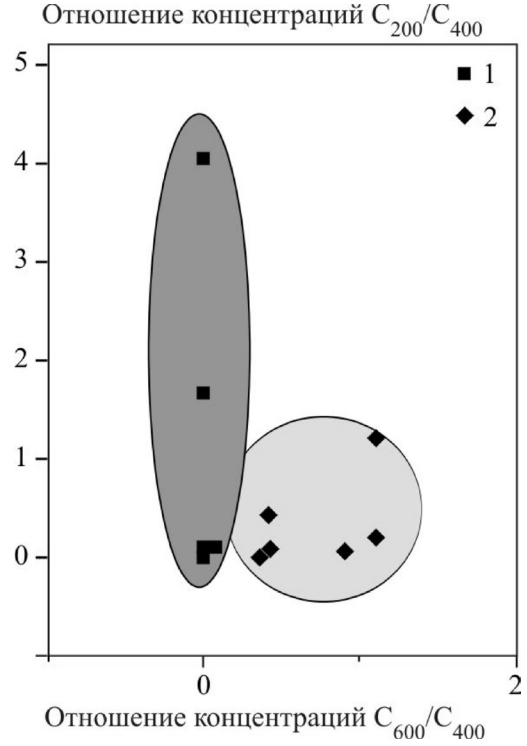

Рис. 5. Вариации отношений концентраций C_{600}/C_{400} и C_{200}/C_{400} ион-радикалов $R_{т/х}$ в костных остатках, отожженных при температурах 200, 400 и 600°С.

1 – древние, 2 – современные и голоценовые отложения.

g-фактора и сужение линии сигнала при росте температуры отжига (рис. 4). Концентрационные зависимости ион-радикала $R_{т/х}$ от температуры отжига существенно различаются для образцов из местонахождений различного возраста (рис. 4): для наиболее древних ископаемых остатков максимумы концентрации на температурных зависимостях сдвинуты в область низких и средних температур (200–400°С), тогда как для современных и голоценовых остатков максимальные концентрации достигаются при более высоких температурах отжига (500–600°С). Этот результат свидетельствует о различной степени преобразования (деструкции, гидролитической деградации) органической компоненты костных остатков в зависимости от возраста и условиях захоронения остатков. Можно заключить, что для более древних отложений требуется меньшая энергия термической активации как для разрыва связей и перевода органических макромолекул в парамагнитное состояние, так и для разрушения парамагнитных ион-радикалов $R_{т/х}$. В костных остатках из современных и молодых отложений появление ион-радикала $R_{т/х}$ требует повышенных энергий активации; образующийся при этом радикал является и более термически стабильным.

Установленная закономерность может быть положена в основу экспресс-методики оценки степени преобразования органической составляющей костных остатков (относительного возраста отложений). В качестве количественного критерия степени преобразованности нами использованы отношения концентраций C_{200}/C_{400} и C_{600}/C_{400} ион-радикалов $R_{т/х}$ в пробах после их отжига при температурах 200, 400 и 600°С (рис. 5). В древних образцах отношение C_{600}/C_{400} низко (после отжига таких образцов при 600°С ион-радикал $R_{т/х}$ практически не сохраняется); при этом отношение C_{200}/C_{400} может варьировать в широких пределах. Напротив, в более молодых, остатках отношение C_{600}/C_{400} имеет более высокие значения, а соотношение C_{200}/C_{400} – низко. Отношение концентраций C_{200}/C_{400} характеризует начальный участок термохимического наведения ион-радикала $R_{т/х}$: чем выше параметр C_{200}/C_{400}, тем ниже температура начала термохимической реакции и тем сильнее исходная степень преобразования органики (для современных слабо преобразованных отложений $C_{200}/C_{400} < 1.2$; для древних отложений вариации C_{200}/C_{400} отражают различия степени преобразования органики). Отношение концентраций C_{600}/C_{400}

характеризует участок термической деструкции ион-радикала $R_{т/х}$: чем выше параметр C_{600}/C_{400}, тем выше температура деструкции (для древних отложений, деструкция в которых заканчивается при пониженных температурах, $C_{600}/C_{400} < 0.1$; для современных отложений, в которых деструкция сдвинута в область повышенных температур, $C_{600}/C_{400} = 0.3 \div 1.1$). Таким образом, показано, что с увеличением возраста ископаемых остатков возрастает термохимическая "эффективность" образования ион-радикала $R_{т/х}$ – он появляется после отжига проб при пониженных температурах; с уменьшением возраста процессы наиболее эффективного образования ион-радикала $R_{т/х}$ смещаются в область повышенных температур.

Выводы. Методами термического анализа исследованы костные остатки различных видов грызунов позднечетвертичных местонахождений с разных глубин залегания и различного возраста захоронений (от современных до ископаемых с возрастом в десятки тысяч лет) из зоогенных отложений в карстовых полостях Уральского региона. Оценки содержания органической компоненты в сериях однотипных костных остатков из одного местонахождения или местонахождений сходной тафономической природы использованы для выявления разновозрастных примесей и хронологического ранжирования внутри больших выборок костных остатков млекопитающих четвертичного возраста. Таким образом, содержание органической компоненты в костных остатках можно рассматривать как некий количественный критерий для выявления разновозрастных примесей и для хронологического ранжирования внутри больших выборок костных остатков млекопитающих позднеплейстоценового и голоценового возраста, происходящих из одного местонахождения.

Впервые в современных и ископаемых костных (зубных) тканях обнаружен сигнал ЭПР от ион-радикалов, индуцированных термохимическими преобразованиями органической компоненты; проанализированы параметры формы и ширины линии ион-радикалов, рассмотрены их возрастные вариации; исследованы температурные эффекты возникновения-разрушения ион-радикалов органического вещества в присутствии кислорода воздуха, который определяет перестройку его химических связей, окисление углеродной матрицы.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ № 07-05-00097а, 08-04-00663-а, а также программ "Происхождение и эволюция биосферы", Программы УрО РАН с ДВО РАН "Применение анализа стабильных изотопов углерода, кислорода и азота костных остатков наземных млекопитающих для палеоэкологических и палеоклиматических реконструкций четвертичного периода".

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Брик А.Б., Щербина О.И., Хаскелл Э.Х., Соботович Э.В., Калиниченко А.М.* О механизмах изменения парамагнитных центров в эмали зубов при нагревании по данным ЭПР // Минералогический журнал. 1997. Т. 19. № 4. С. 3–13.
2. *Вагнер Г.А.* Научные методы датирования в геологии, археологии и истории. М.: Техносфера, 2006. 576 с.
3. *Вотяков С.Л., Галеев А.А., Галахова О.Л., Леонова Л.В., Ильиных А.С.* ЭПР как метод исследования органической компоненты биогенных карбонатных пород (на примере строматолитсодержащих пород рифея Южного Урала) // Ежегодник-2005. Екатеринбург: ИГГ УрО РАН, 2006. С. 39–47.
4. *Вотяков С.Л., Ронь Г.И., Борисов Д.Р., Мандра Ю.В., Краснобаев А.А.* Особенности радиационного дефектообразования в биогенных апатитах // Ежегодник-1997. ИГГ УрО РАН. Екатеринбург: УрО РАН, 1998. С. 129–134.
5. *Горбунова И.Л., Недосеко В.Б., Дроздов В.А., Антоничева Н.В.* Исследование термоустойчивости интактной зубной эмали у лиц с различным уровнем резистентности к кариесу // Стоматология. 2003. № 3. С. 4–8.
6. *Недосеко В.Б., Горбунова И.Л., Дроздов В.А.* Масс-спектральный анализ воды интактной зубной эмали у лиц с различным уровнем резистентности к кариесу // Стоматология. 2004. № 4. С. 13–16.
7. *Смирнов Н.Г.* Разнообразие мелких млекопитающих Северного Урала в позднем плейстоцене и голоцене // Материалы исследования по истории современной фауны Урала. Екатеринбург. 1996. С. 39–83.
8. *Dickneider T.A., Scull S., Whelan J.K., Blough N.V.* EPR study of kerogens from Middle Valley, Northern Juan de Fuca Ridge (ODP Leg 139) // Org. Geochem. 1997. V. 26. № 5/6. P. 341–352.
9. *Gourier D., Binet L., Scrzypczak A., Derenne S., Robert F.* Search for EPR markers of the history and origin of the insoluble organic matter in extraterrestrial and terrestrial rocks // Spectrochimica Acta. Part A. 2004. V. 60. P. 1349–1357.
10. *Ikea M., Miyagawa J., Okajima S.* ESR dosimetry for atomic bomb survivors using shell buttons and tooth enamel // Jap. J. Appl. Phys. 1984. V. 24. № 9. P. 697–699.
11. *Ishii H., Ikeya M.* ESR dosimetry of teeth residents close to Chernobyl Reactor accidents // J. Nucl. And Technol. 1990. V. 27. № 12. P. 1153–1157.
12. *Szöőr G.* Fossil age determination by thermal analysis // J. Thermal Analysis. 1982. V. 23. P. 83–91.