

<http://dx.doi.org/10.17703/JCCT.2015.1.2.65>

JCCT 2015-5-6

SEM/EDS를 이용한 화장 분골의 형태와 성분 분석

Morphology and Chemical Composition Analysis of Human Cremated Ash by SEM/EDS

황규성*, 안우환*, 김정래**

Kyu-Sung Hwang*, Woo-Hwan An*, Jeong-Lae Kim**

요약 인체 골격의 열에 대한 영향의 연구는 주로 뼈와 치아에 한정되어져 왔는데, 인체의 다른 조직에 비해 고온에서 저항성이 크고 장시간의 열의 노출에도 인지할 수 있는 형태로 남아있기 때문이다. 고온에 따른 치아의 조직변화에 대해서는 많은 연구가 있어왔지만, 뼈에 관한 연구는 미진하며, 한국에서는 이에 대한 연구가 전무하다. 본 연구에서는 주사전자현미경과 에너지분산분광분석기로 한국인 남녀의 화장 후 분골을 분석하였으며, 그 결과 남녀 모두 두 종류의 결정(구형, 6각형 프리즘형태)이 관찰되었으며, 남자보다 여자의 분골 결정이 작고 더 둥글었다. 칼슘과 산소의 양이 분골 무기질의 대부분을 차지하였는데, 이는 고온에서 형성되는 CaO(칼슘옥사이드)에 의한 것으로 확인할 수 있었다.

주요어 : 분골, 화장, SEM, DES, 크리스탈

Abstract Teeth and bones are very resistance to high temperatures and remain recognizable even after prolonged exposures to heat. The effects of heating and burning on teeth have been studied with the aim of discerning a characteristic signature withstanding high temperature, but there have been few studies about a human cremated ash, especially Korea. We are recognizable by elemental composition and can be detected in human cremated ash samples by Scanning electromicroscopy/Energy dispersive X-ray spectrometry analysis(SEM/EDS), cremated, at 800~900°C for 1 hour. In this temperature range, different crystals morphologies(spherical, irregular and hexagonal) are observed in SEM. Calcium(Ca) and oxygen(O) increases steadily after cremation in EDS. We suggest that cremated bone have been provided with calcium oxide(CaO) formation at temperature above 900°C. This study offers basic data to assess the structure and elemental compositions of human ash and to determine if these remain identifiable after exposure to extreme temperatures.

Key Words : Human ash, Cremation, SEM, EDS, Crystals

1. 서론

인체 골격의 열에 대한 영향의 연구는 주로 법의학 및 체질인류학적 분야에서 조사되어져 왔다. 고온의 열에

의한 신체조직의 파괴에 의해 대부분의 연조직은 연소되어 버리기 때문에 개개인의 확인을 위한 연구는 주로 뼈와 치아에 한정되어져 있다.

뼈와 치아는 인체의 다른 조직에 비해 고온에서 저항

*정희원, 을지대학교 장례지도학과

**정희원, 을지대학교 의료공학과(교신저자)

접수일자: 2014년 12월 20일, 수정완료일자: 2015년 3월 16일

게재확정일자: 2015년 4월 20일

Received: 20 December 2014 / Revised: 16 March 2015

Accepted: 20 April 2015

**Corresponding Author: jlkim@eulji.ac.kr

Dept.: Biomedical Engineering, Eulji University

성이 크고 장시간의 열의 노출에도 인지할 수 있는 형태로 남아있는 조직으로, 특히 치아는 온도변화에 따른 조직파괴의 양상이 매우 명확하여 온도의 변화에 따른 치아조직의 파괴양상에 대해 많은 연구가 진행되어져 왔다. 하지만 고온에 따른 뼈에 대한 연구는 미진하며, 주로 SEM, SAXS 등을 이용한 뼈 미세탈의 형태, 크기 및 모양에 관한 연구로 국한되어져 왔다.

JL Holden 등(1)은 고온에서(800-1600℃)에서 2시간 처리시 두 종류의 결정(구형, 6각형 프리즘형태)이 관찰된다고 하였다.

또한 600℃ 이상에서 비로소 열처리에 의해 pyrophosphate가 생성된다고 알려져 있다. 뼈조직에서 형성되는 pyrophosphate의 양은 나이와 연관성이 있어 나이가 들에 따라 작은 구형 결정크기가 증가된다고 보고하였다.

본 연구에서는 일반적 화장 온도에서 관찰되는 뼈 미세탈의 특징적 결정체 변화를 SEM/EDS를 통해 보고, 이를 통해 완전 연소된 상태에서의 뼈 구조물의 형태변화와 뼈 미세탈의 화학조성을 확인하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 대상

60세 후반의 성인 남, 여 각각 1인을 2차 연소시설, 후단시설이 있고 비례제어시스템이 있는 화장장에서 완전 연소시켰다. 화장온도는 평균 850℃에서 80분간 완전 연소되었으며 분석을 위한 인위적인 조정은 없었다. 화장한 유골은 자동분쇄기에 분쇄되어 타 분골과 섞이거나 불순물이 첨가되지 않은 상태에서 일부분 채취하여 관찰하였다.

2. 실험방법

1) 형태학적 및 성분 분석

(1) 주사전자현미경적 관찰

800~900℃에서 60분간 화장된 뼈의 표면구조를 관찰하기 위해서 채취 후 전처리 과정을 거치지 않은 화장 뼈를 실험재료로 사용하였다. 각각의 시료를 2.5% glutaraldehyde - 4% paraformaldehyde (4℃, PBS, pH 7.4)로 2시간 전고정하고, 인산완충용액(4℃, 0.1M PBS, pH 7.4)으로 15분씩 3회 세척한 다음, 1% osmic acid (4℃, PBS)로 1시간 고정하였다. 고

정이 끝난 시료는 동일 인산완충용액으로 15분씩 3회 세척한 다음, 에탄올 농도상승 순으로 탈수하여 isoamyl acetate로 치환하였다. 처리된 시료는 임계점 건조기(critical point dryer, SCP-II Hitachi, Japan)에서 건조시킨 후, 이온침착기(ion coater, E-1030, Hitachi, Japan)를 사용하여 20 nm두께로 금도금(gold coating)한 다음 주사전자현미경(S-4700, Hitachi, Japan)으로 10 kV에서 관찰하였다.

2) 에너지분산분광(EDS) 분석

화장 분골 외부에 부착되어 있는 물질의 성분을 분석하기 위해 C, O, S, Na, Ca, Mg 등의 분포양상을 에너지분산분광분석기(INCA, Oxford Ins., Great Britain)를 사용하여 확인하였다. 이때 가속전압은 15kV를 이용하였다.

III. 결과

1. 주사전자현미경적 관찰

화장된 뼈를 최대한 보존하기 위해 채취한 상태에 별다른 처리없이 주사전자현미경으로 관찰한 결과, 뼈 표면에는 소금을 뿌린 듯한 결정체들이 부분적으로 또는 완전히 둘러싸고 있었다.

크게 두 종류의 결정이 관찰되었다. 구형과 유사한 결정이 보였고, 다른 것은 6각형 프리즘형태가 보였다. 평균 지름은 $0.07 \pm 0.010 \mu\text{m}$ 였다. 성별에 따라 크기의 형태 변화가 있었는데 남자보다 여자의 분골 결정이 작고 더 둥근 특징이 관찰되었다(그림 1, 2). 남, 여 모두 다양한 형태의 결정이 존재하였으며 형태는 둥근 형태, 불규칙 형태, 6각형 형태 등 다양하였다(그림 1, 2).

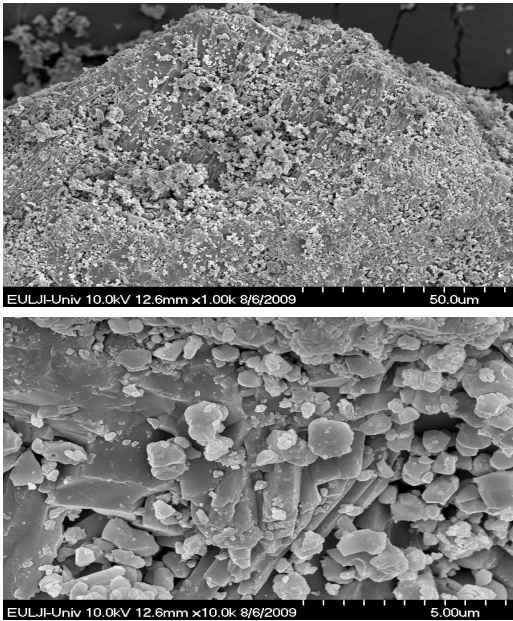


그림 1. SEM을 통한 화장 후 분골의 형태 분석(남성)
 Figure 1. An Electron Micrograph of SEM(scanning electron microscope) of human ash after cremation (male).

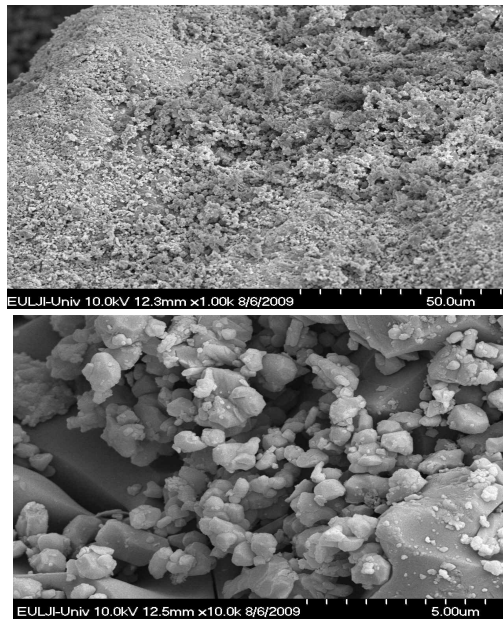


그림 2. SEM을 통한 화장 후 분골의 형태 분석(여성)
 Figure 2. An Electron Micrograph of SEM(scanning electron microscope) of human ash after cremation (female).

2. 에너지분산분광(EDS) 분석 결과

화장된 뼈 표면을 에너지분산분광분석기를 사용하여 분석한 결과, 주로 산소(50~55%), 칼슘(30~40%)의 성분이 검출되었으며, 소량의 탄소와 나트륨, 황, 마그네슘 성분이 검출되었다(Table 1).

소량의 탄소만이 검출된 것은, 완전 연소에 의해 유기물이 모두 연소되었기 때문으로 생각할 수 있었다. 또한 칼슘과 산소의 양이 분골 무기질의 대부분을 차지하였는데, 이는 900℃에서 일정시간동안 열을 가하여 만들어진 crystalline hydroxyapatite인 CaO(칼슘 옥사이드)가 생성됨을 확인할 수 있었다(7).

sex	Classification of examination (Weight %)					
	C	O	S	Na	Ca	Mg
male		50.20		1.96	47.84	
	7.76	54.82		1.22	36.20	
female	9.87	60.04	0.74	1.77	25.73	1.84
		50.20		1.96	47.84	

표 1. EDS를 통한 화장 분골의 성분분석

Table 1. Mineral data of EDS(energy dispersive X-ray system) of human ash after cremation.

IV. 고 찰

인체와 골격의 열에 대한 영향 연구는 열에 의한 신체조직의 파괴에 의해 물리적 증거 수집이 어려워 사체의 확진을 위해 정확한 결정을 내리는데 많은 어려움을 야기하기 때문에 주로 법의학 및 체질인류학적 분야에서 조사되어져 왔다.

특히 치아는 인체의 다른 조직에 비해 고온에서 저항성이 크고 장시간의 열의 노출에도 인지할 수 있는 형태로 남아있는 조직 중 하나이며, 온도변화에 따른 조직파괴의 양상이 매우 명확하여 온도의 변화에 따른 치아조직의 파괴양상에 대해 많은 연구가 진행되어져 왔으나 뼈의 연구는 미진한 편이다. 불에 탄 인체 뼈의 연구는 주로 육안적, SEM, SAXS 등을 이용하여 뼈 미세골의 형태, 크기 및 모양에 대한 변화에 대해 연구되어져 왔다(2, 3, 4).

M Bohnert(5)은 낮은 온도(200-600°C)에서 2시간 연소시 뼈의 색변화는 온도에 따라 변화하였으나(200°C에서는 옅은지, 300°C에서는 검정, 600°C에서는 회색), 뼈조직의 주요 기본구조는 변하지 않았다고 하였으며, 고온에서(800-1600°C)에서 2시간 처리시 두 종류의 결정(구형, 6각형 프리즘형태)가 관찰된다고 하였다.

JC Hiller 등(6)은 화장시 뼈조직은 낮은 온도(200-600도)에서는 생뼈와 같은 조직학적 특징이 관찰된다고 하였으며, 600°C 이상에서 비로소 열처리에 의해 pyrophosphate가 생성된다고 알려져 있다. 뼈조직에서 형성되는 pyrophosphate의 양은 나이와 연관성이 있어 나이가 들어감에 따라 작은 구형 결정크기가 증가된다고 보고하였다.

본 연구에 사용된 화장 분골(human cremated ash)은 60대 후반의 남녀로 pyrophosphate 생성이 예상되었으며, 다양한 크기의 pyrophosphate가 발견됨을 관찰할 수 있었다. 800°C 이상에서 결정화(crystallinity)가 증가하고 결정의 증가가 가속되는 것은 합성된 hydroxyapatite의 침전(sintering)때문으로 보고되어져 있다.

한편 JC .Hiller 등(6)은 900°C에서 45분간 열을 가했을 때 crystalline hydroxyapatite가 매우 증가된다고 하였고, 이것은 hydroxyapatite crystal의 특정한 형태 및 크기와 특정한 온도와 관계가 있음을 보여준다고 하였다. JL. Holden 등(1)은 600°C부터는 뼈 mineral의 recrystallisation이 보였으며, 매우 다양한 결정체 모양(둥근, hexagonal(6각형의), rosettes(장미꽃), 불규칙한(irregular) 모양)을 생산해냈다고 하였다.

본 실험에서도 다양한 형태의 결정체를 볼 수 있었는데, JL Holden 등(1)의 연구에서 관찰되었던 결정체가 모두 관찰되었다(둥근 모양, 불규칙한 모양, 6각형 모양). 남, 여에 따라 결정체의 차이가 있었는데 남자의 골분에서는 형태와 크기가 다양한 결정체가 보이는 반면, 여성의 골분에서는 작고 둥근 결정체가 균일하게 분포되어 있는 것을 관찰할 수 있었다. 이는 JL. Holden 등(1)의 연구에서 보듯 여성이 남성보다 나이가 더 들어 작은 구형 결정크기가 증가된 것으로 예상할 수 있었다.

본 실험에서 800°C도에서 80분간 화장한 분골을 EDS를 통해 성분을 분석한 결과 탄소가 거의 없는 것으로 보아 유기물의 완전 연소가 이루어졌음을 확인할

수 있었으며, 이를 통해 800°C도 이상에서 60분간의 연소가 유기물의 완전 연소를 발생함을 확인하였다.

또한 Ca와 O의 양이 human ash 무기질의 대부분을 차지하였다. J.C.Hiller 등(6)이 관찰한 대로 700°C부터 CaO(칼슘옥사이드)가 형성되며 900°C에서 45분간 열을 가했을 때 crystalline hydroxyapatite가 증가된다고 하였는데 800~900°C에서 60분간 열을 가했을 경우 CaO가 생성됨을 확인할 수 있었다(7).

V. 결론

본 연구는 국내 연구로는 처음으로 한국인 성인 남녀의 화장(cremation) 이후 주사전자현미경을 통해 사람의 분골의 형태와 에너지분산분광분석기를 통해 미네랄 성분의 화학조성을 분석한 연구이다. 해당 연구의 결과는 다음과 같다.

1. 주사전자현미경을 통해 관찰한 결과, 남녀 모두 두 종류의 결정(구형, 6각형 프리즘형태)이 관찰되었다.
2. 남자보다 여자의 분골 결정이 작고 더 둥글었다.
3. 소량의 탄소만이 검출된 것은, 완전 연소에 의해 유기물이 모두 연소되었기 때문으로 생각된다.
4. 칼슘과 산소의 양이 분골 무기질의 대부분을 차지하였는데, 이는 고온에서 형성되는 CaO(칼슘옥사이드)에 의한 것으로 확인할 수 있었다.

References

- [1] JL. Holden, PP Phakey, JG Clement. Scanning electron microscope observations of heat-treated human bone. Forensic Science International, 74, pp.29-45. 1995
- [2] L Harsányi. Scanning electron microscopic investigation of thermal damage of the teeth. Acta Morphol Acad Sci Hung. 23, pp.271-81. 1975
- [3] Ronald F. Carr, Robert E. Barsley, William D. Davenport. Postmortem examination of incinerated teeth with the Scanning Electron Microscope. Journal of Forensic Sciences. pp.1-7. 1986

- [4] Douglas H. Ubelaker, Dennis C. Ward, Valéria S. Braz, John Stewart. The use of SEM/EDS analysis to distinguish dental and osseous tissue from other materials. *Journal of Forensic Sciences*. pp.940–943. 2002
- [5] Michael Bohnert, Thomas Rost, Stefan pollak, The degree of destruction of human bodies in relation to the duration of the fire. *Forensic Science international* 95. pp.11–21. 1998
- [6] JC Hiller, TJU Thompson, MP Evison, AT Chamberlain, TJ Wess. Bone mineral change during experimental heating: an X-ray scattering investigation. *Biomaterials*. 24. pp.5091–5097. 2003
- [7] Matthew Barry, Metal residues after cremation. *BMJ*, 308, pp.390, 1994