

湖沼堆積物に含まれる脂質化合物の放射性炭素年代測定に関する基礎研究

渡邊隆広¹⁾, 中村俊夫¹⁾, 西村弥重²⁾

1) 名古屋大学年代測定総合研究センター, 2) 東海大学海洋学部

湖沼堆積物中の脂質化合物（脂肪酸、炭化水素等）の放射性炭素年代測定を目的とした基礎実験結果を報告する。標準試料として直鎖状飽和脂肪酸メチルエステル混合物（炭素数 16-24）、直鎖状飽和炭化水素（Octacosane, 炭素数 28）を用いて、抽出操作前と後での年代値を比較した。直鎖状飽和脂肪酸メチルエステル混合物においては、脂質抽出操作により平均 100 年程度、¹⁴C 年代が古くなる結果が得られた。直鎖状飽和炭化水素においてはバックグラウンドに近い値が得られ、脂質抽出操作前と後での ¹⁴C 年代値に差は認められなかった。脂肪酸の年代値が変化した理由として、使用した有機溶媒（ジクロロメタン、メタノール）の調製法の違いによるものと考えられる。

[はじめに]

湖沼堆積物は過去に生息していた生物に由来する各種有機化合物および生物遺体（植物片、微化石）等を含んでおり、過去における環境変動および生物活動の解析を行うための重要な情報源となる。湖沼堆積物中に、放射性炭素年代測定を行うための植物片、炭酸塩骨格を持つ微化石が含まれていない場合、堆積物中全有機態炭素（TOC）の放射性炭素年代測定により、堆積層の形成年代を推定する手法が一般的である（Colman et al., 1996; Watanabe et al., 2005）。しかしながら、これまでに報告されてきているように、TOC は様々な供給源を持つ有機化合物の混合体であり、その供給源の変化が年代値に大きな影響を与えることが指摘されている（Watanabe et al., in press）。より正確な年代を得るため、堆積物中の TOC ではなく、花粉や供給源の限定可能な有機化合物を抽出して年代測定を行うことが重要である。脂質化合物は、難分解性であり長期間堆積物中で存在し、かつ供給源を特定できる成分を含んでいる（Eglinton et al., 1997; Pearson et al., 2001; Nishimura et al., 2006）。本研究では、画分レベル・分子レベルでの脂質年代測定を視野にいれ、有機溶媒による抽出操作がどの程度年代値に影響を与えるのか評価する。脂肪酸、炭化水素の標準試料、および

ロシア・バイカル湖の湖底堆積物 (~250 ka BP) を用いて基礎実験を行った。

[試料と分析法]

脂質標準試料として直鎖状飽和脂肪酸メチルエステル 5 種の混合物 (Fatty acid methyl esters, NU-CHEK-PREP, INC., GLC-reference standard、炭素数 16, 18, 20, 22, 24)、直鎖状飽和炭化水素 (Octacosane, SIGMA、炭素数 28) を用いた (Table 1)。湖底堆積物試料はロシア・バイカル湖から採取された VER98-1 St.5 コア (堆積物深度約 9m, 約 250 ka BP) を用いた。分析法は渡邊ら (2006) に従った。脂質標準試料および堆積物中の脂質化合物は、テフロン製遠沈管内でセラミックボールとともに Dichloromethane : Methanol (1:2 v/v, 50ml) で 1 回、Dichloromethane : Methanol (3:1 v/v, 50ml) で 3 回抽出操作を行い、ロータリーエバポレーターを用いて濃縮した。得られた抽出液を Dichloromethane で洗浄した蒸留水 100ml を用いて水洗後、濃縮し、バイコール管 (6mm x 40mm) 内で有機溶媒を窒素吹き付けにより完全に除去し、乾固・回収した。抽出した脂質化合物は、酸化銅とともに 850°C で燃焼し、真空ラインを用いて CO₂ ガスを精製した。次に CO₂ ガスを、鉄を触媒として水素により還元させグラファイトとし、¹⁴C 測定用ターゲットを作成した。¹⁴C 測定は名古屋大学タンデトロン加速器質量分析計 (HVEE 社製, Model-4130 AMS) を用いて行われた。

Table 1. Authentic lipids (Fatty acid methyl esters and Octacosane) for ¹⁴C age dating.

Standard compound	Chain	Formula	Molecular weight	Purity (%)
Fatty acid methyl esters (NU-CHEK-PREP, INC.)				
Methyl hexadecanoate	C _{16:0}	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	270	99.5
Methyl octadecanoate	C _{18:0}	C ₁₉ H ₃₈ O ₂	298	99.8
Methyl eicosanoate	C _{20:0}	C ₂₁ H ₄₂ O ₂	326	99.7
Methyl docosanoate	C _{22:0}	C ₂₃ H ₄₆ O ₂	354	99.8
Methyl tetracosanoate	C _{24:0}	C ₂₅ H ₅₀ O ₂	382	99.7
Hydrocarbon				
Octacosane (SIGMA)	C _{28:0}	C ₂₈ H ₅₈	396	Approx.99

[結果と考察]

Table 2 および Figures 1, 2 に、著者が 2005 年 11 月 4 日から 2006 年 11 月 20 日の間に試料処理を行ったシュウ酸標準試料 (HOxII) の使用炭素量、真空ラインによる CO₂ ガス精製の際の炭素の回収率、および放射性炭素濃度測定結果を示す。回収率は炭素量 0.5-2 mg で変動は小さく (96.3±1.1 %)、炭素量 0.5 mg 以下で約 90%まで減少する傾向が見られた。炭素量 0.7-2.0 mg で、放射性炭素濃度測定が炭素量および回収率に依存する傾向は認められなかった。Figures 1 において、脂質化合物 (Fatty acid methyl esters および Octacosane) の回収率は 65-109 %と大きく変動しているが、これは脂質抽出操作によるものである。特に炭素量の少ない試料において回収率が 100%を超える結果が得られた。直鎖状飽和脂肪酸 (Fatty acid methyl esters) の抽出操作を行う前の脂質標準試料の ¹⁴C 年代測定を 5 回行い、平均値約 390 BP の結果が得られた。抽出操作後の脂肪酸の年代値は古くなる傾向があり (平均で 100 年程度)、脂質抽出操作による古い炭素の混入が認められた (Figures 3, 4)。年代測定結果の変動は、回収率や炭素量と相関が認められないことから、使用した有機溶媒の調製法の違いによるものであると考えられる。一級試薬を蒸留した有機溶媒を使用した場合、440-460 BP (平均値は 450 BP) であり、抽出操作前より系統的に約 60 年古い値が得られた。溶媒中に存在する汚染物質の種類と量の違いが結果に反映されたものと考えられる。今後有機溶媒を交換するごとに標準試料の年代測定を行い、随時必要な補正を行うべきである。

Table 2. ¹⁴C ages of authentic lipids (Fatty acid methyl esters mixture and Octacosane) after extraction procedures and TOC in Lake Baikal sediment (~ 250 ka BP, VER98-1 St.5).

Sample No.	R= ¹⁴ C conc. (x modern carbon)	¹⁴ C age (BP)	Recovery rate (%)	
Oxalic acid (HOxII)	1.3406±0.0034	-2355±21	96.3±1.1	(n=52)
Fatty acid methyl esters	0.9528±0.0035	389±29	97.1±3.4	(n=6)
Fatty acid methyl esters (after lipid extraction procedures)	0.9424±0.0117	477±100	93.3±7.2	(n=15)
Octacosane	0.0021±0.0005	49557±1613	95.7±7.0	(n=11)
Octacosane (after lipid extraction procedures)	0.0024±0.0004	48436±1154	85.6±10.9	(n=8)
TOC in Lake Baikal sediment (~ 250 ka BP)	0.0057±0.0002	41504±235	96.3±1.1	(n=4)

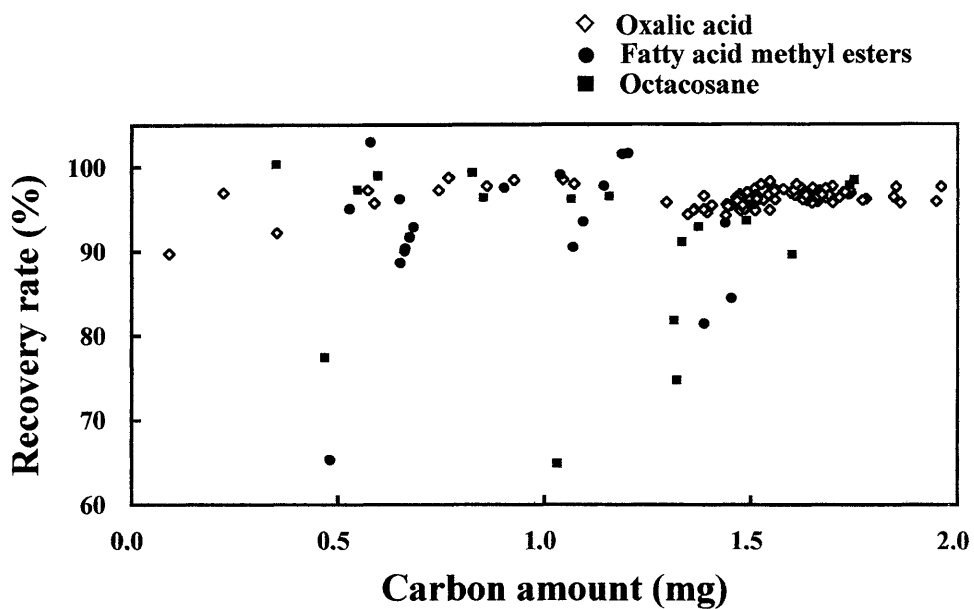


Figure 1. A plot of recovery rate vs. carbon amount for oxalic acid and authentic lipid materials.

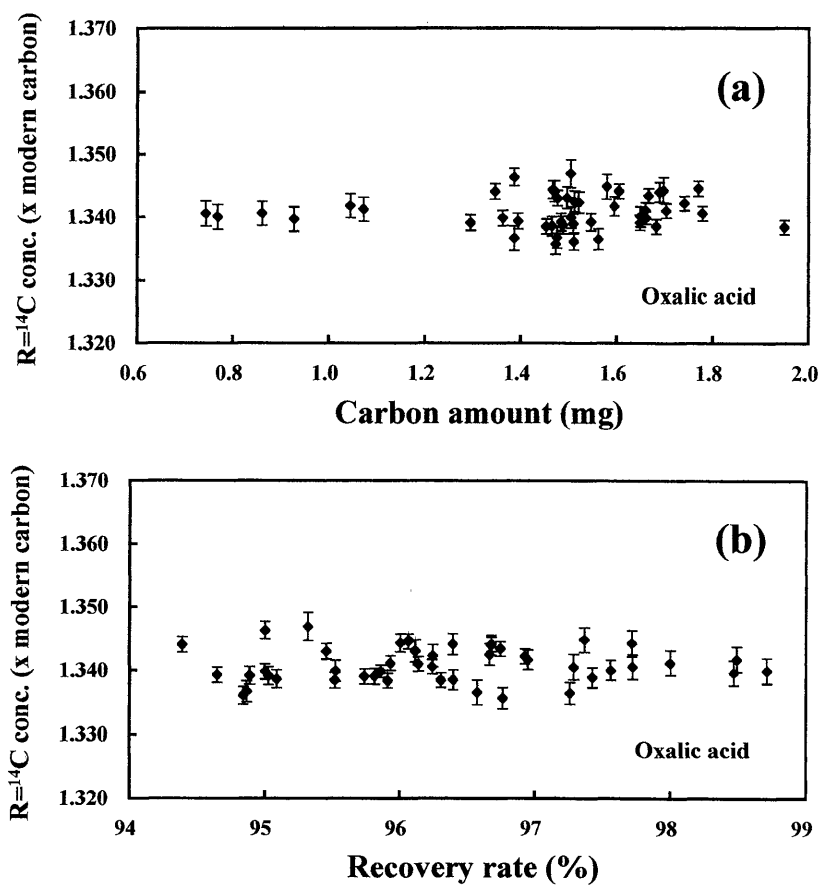


Figure 2. Plots of (a) ^{14}C concentration vs. carbon amount, and (b) ^{14}C concentration vs. recovery rate for oxalic acid.

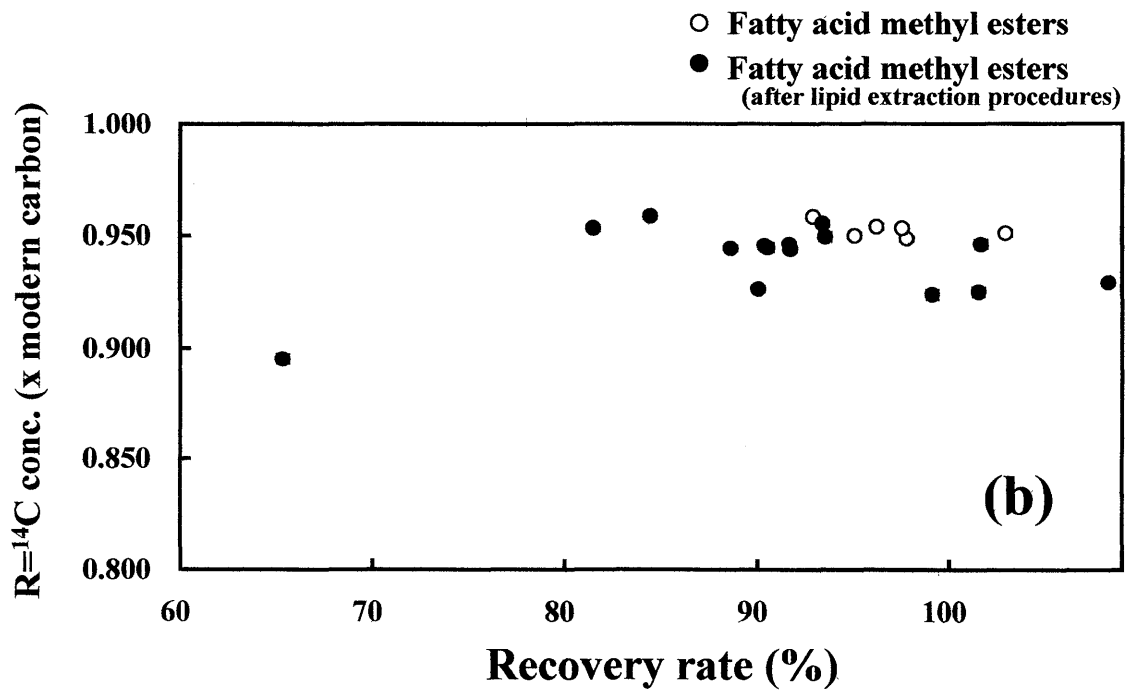
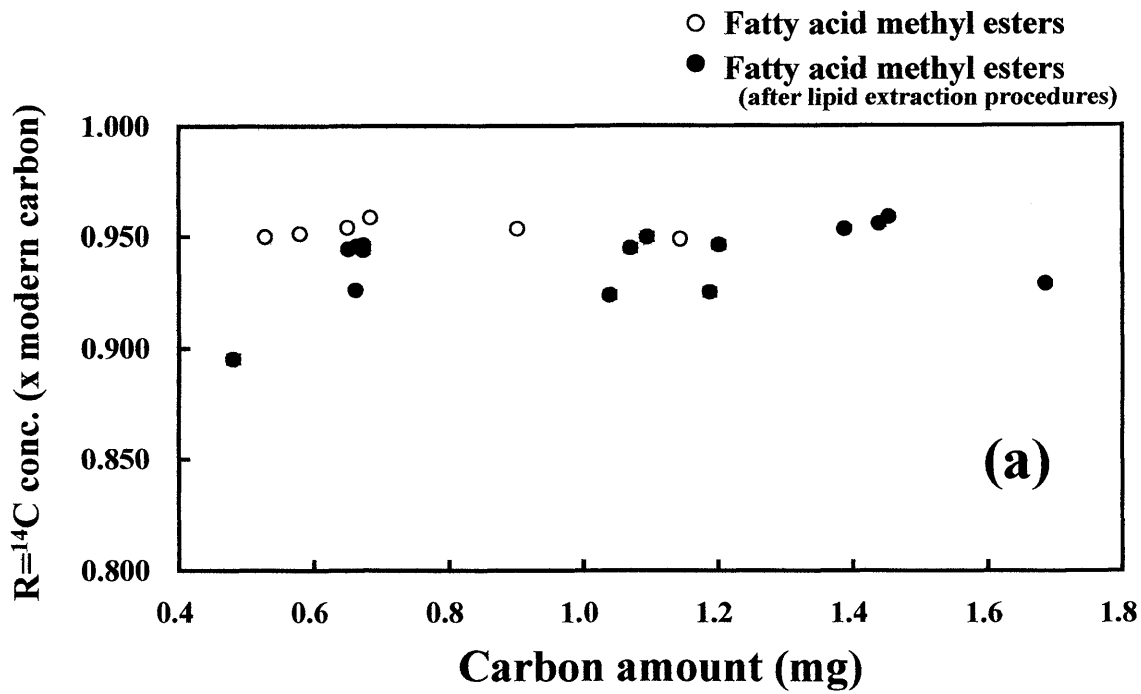


Figure 3. Plots of (a) ¹⁴C concentration vs. carbon amount, and (b) ¹⁴C concentration vs. recovery rate for fatty acid methyl esters.

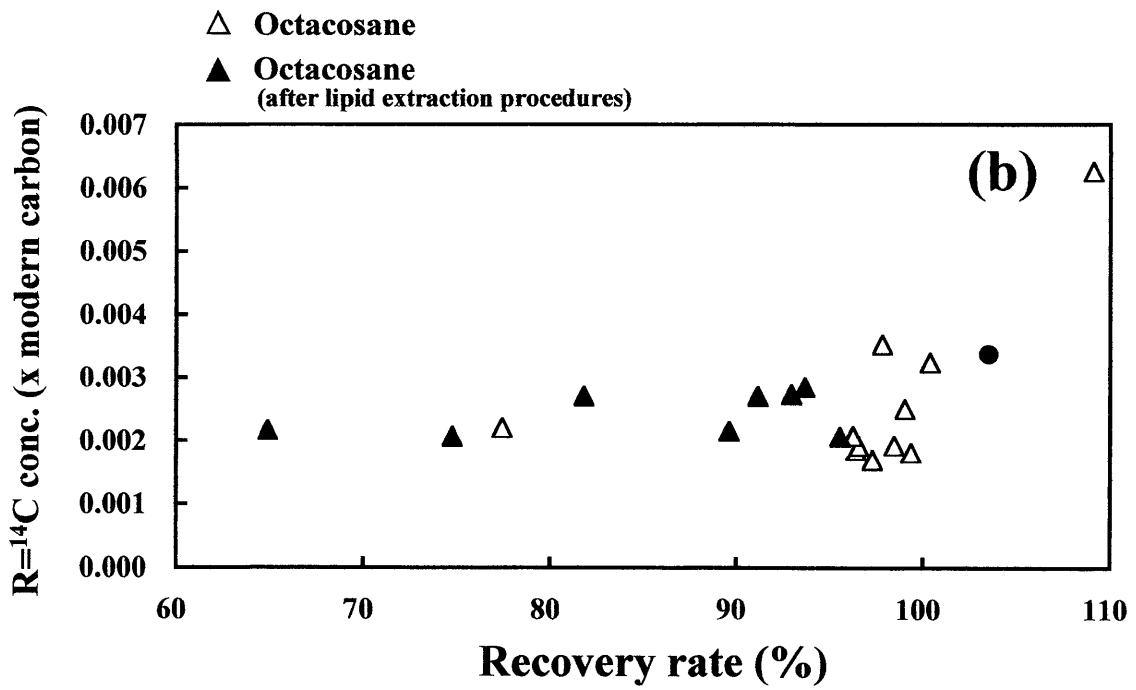
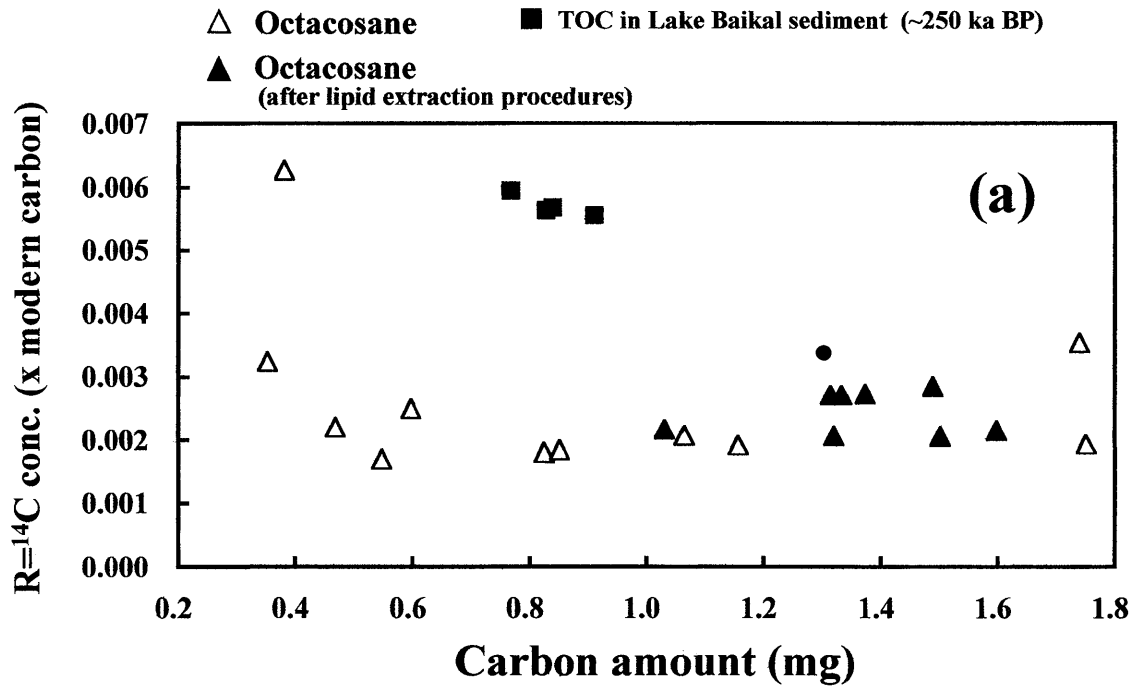


Figure 4. Plots of (a) ^{14}C concentration vs. carbon amount, and (b) ^{14}C concentration vs. recovery rate for Octacosane.

直鎖状飽和炭化水素 (Octacosane) においては、抽出操作前 (平均 49557 ± 1613 BP) と後 (平均 48436 ± 1154 BP) での年代測定結果に明瞭な差は認められなかった (Figure 4)。抽出操作前の試料において、炭素量約 0.4 mg で、約 40000 BP と年代が若くなる結果が得られ、少ない炭素量での分析過程において現代炭素の影響が比較的強く現れたことが考えられる。 ^{14}C を含んでいない試料のはずである 25 万年以前のバイカル湖の堆積物の年代測定結果は約 41500 BP であり (Table 2, Figure 4)、同様の処理を行った脂質標準体 (Octacosane) と比較して若い年代が得られた。この結果は、おそらく試料採取時もしくは分取時における汚染の影響と考えられる。

年代測定を目的とした脂質抽出操作においては、現代炭素による汚染よりも、抽出に使用する有機溶媒由来と考えられる古い炭素の影響をできる限り低くし、かつその影響を一定に保つ必要がある。本研究では、390BP の脂質標準体に対して、一連の抽出操作を行い、約 60 年古い値 ($440\text{-}460$ BP) で安定させることに成功している。しかしながら、有機溶媒を変更すると結果のばらつきが大きくなる傾向が認められることから、毎回、標準試料を用いて値を確認する必要がある。

[引用文献]

- 1) Colman, S.M., Jones, G.A., Rubin, M., King, J.W., Pecks, J.A., Orem, W.H, 1996. AMS radiocarbon analyses from Lake Baikal, Siberia: Challenges of dating sediments from a large, oligotrophic lake. *Quaternary Science Reviews* 15, 669-684.
- 2) Watanabe, T., Tanaka, A., Nara, F., Nakamura, T., Senda, R., Nishimura, M., Kawai, K., 2005. Paleoproductivity changes in Lake Baikal over the last 250kyr. *Verhandlungen der IVL* 29, 903-906.
- 3) Watanabe, T., Nakamura, T., Kawai, T., Radiocarbon dating of sediments from large continental lakes (Lakes Baikal, Hovsgol and Erhel). *Nucl. Instr. and Meth. in Phys. Res. B*, in press.
- 4) Eglinton, T.I., Benitez-Nelson B.C., Pearson, A., McNichol, A.P., Bauer, J.E., Druffel, E.R.M., 1997. Variability in radiocarbon ages of individual organic compounds from marine sediments. *Science* 277, 796-799.
- 5) Pearson, A., McNichol, A.P., Benitez-Nelson B.C., Hayes, J.M., Eglinton, T.I., Origin of lipid biomarkers in Santa Monica Basin surface sediment: A case study using compound-specific $\Delta^{14}\text{C}$ analysis. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 65, 3123-3173.
- 6) Nishimura, M., Shimokawara, M., Watanabe, T., Mizuno, K., 2006. Efficient GC/MS analysis of hydroxy lipid compounds from geochemical samples using tertiary-butyltrimethylsilyl etherification. *Organic Geochemistry* 37, 1019-1035.
- 7) 渡邊隆広、中村俊夫、西村弥重、河合崇欣 「バイカル湖表層堆積物に含まれる脂質化合物の ^{14}C 年代測定」 第 8 回 AMS シンポジウム報告集, pp 13-16, 2006.

**The AMS dating of lipids in lake sediments:
a basic study of lipids extraction method for ^{14}C measurement**

Takahiro WATANABE¹⁾, Toshio NAKAMURA¹⁾,

Mistugu MISHIMURA²⁾

- 1) Center for Chronological Research, Nagoya University. Furo-cho, Chikusa, Nagoya 464-8602 JAPAN. Tel: +81-52-789-2579,3082 / Fax: +81-52-789-3092
e-mail: t-wata@nendai.nagoya-u.ac.jp, nakamura@nendai.nagoya-u.ac.jp

- 2) School of Marine Science and Technology, Tokai University, 3-20-1 Orido, Shimizu, Shizuoka 424-8610, JAPAN.

The age dating and age models for the Late Pleistocene-Holocene studies have mainly progressed by radiocarbon measurements of biogenic materials (total organic carbon (TOC), plant residues, microfossils) using accelerator mass spectrometry (AMS; Andreev et al., 2001; Yi et al., 2004; Vasil'chuk et al., 2004; Bezrukova et al., 2005). AMS radiocarbon dating is indispensable to perform paleo-environmental, climatic and biological studies. Radiocarbon dating of sedimentary lipids provides relatively accurate age, because total organic carbon (TOC) in the sediments is complex mixture of various organic materials. In this study, we estimate modern and/or dead carbon effect on radiocarbon dating by lipid extraction procedures for lake sediments. For lipids extraction, authentic lipids and wet sediment samples were weighted in 70 ml Teflon centrifuged tubes. 50ml of dichloromethane/methanol (2:1v/v, grade 5000, WAKO) were added in each tubes, then ultrasonicated, shaken with ceramic balls (30 min.) and centrifuged. The supernatant was removed and repeated 3-5 times until the supernatant was colorless. For radiocarbon dating and stable carbon isotope measurements, lipids were combusted at 850 °C for 6 hours in evacuated bycol tubes (9 mm x 35 cm) with CuO and Ag wire. The resulting CO₂ was collected and purified in a vacuum line and subsequently reduced to graphite with an iron catalyst and hydrogen at 650°C for 6h. Radiocarbon measurements were performed by Tandetron accelerator mass spectrometer (Model-4130 AMS, HVEE) at Nagoya University.