

浮遊性有孔虫殻中のアミノ酸のラセミ化反応による
海底堆積物の年代測定に関する研究

原 田 尚 美



報告書 甲 第 3500 号

主 論 文

大気水圏科学専攻
原田 尚美

浮遊性有孔虫殻中のアミノ酸のラセミ化反応による
海底堆積物の年代測定に関する研究

原田 尚美

要旨

I	緒言	1
II	方法	7
II-1	海底堆積物試料	7
II-2	アミノ酸分析	9
II-3	放射性炭素年代測定	10
II-4	酸素同位体比分析	11
II-5	ラセミ化反応年代測定法の原理	11
III	浮遊性有孔虫化石を全種類で用いたアスパラギン酸のラセミ化反応 による海底堆積物の年代測定	18
III-1	はじめに	18
III-2	結果	18
III-2-1	有孔虫の種類組成	18
III-2-2	アミノ酸組成	19
III-2-3	アスパラギン酸の異性体比	22
III-2-4	放射性炭素年代	27
III-3	考察	27
III-3-1	有孔虫殻中のアミノ酸含有量及び組成	27
III-3-2	アスパラギン酸のラセミ化反応速度定数	32
III-3-3	氷期-間氷期における深層水温変動がアスパラギン酸のラセミ化反 応速度定数に及ぼす響	37

III-3-4	タンパク質の続成的加水分解と炭酸塩の溶解がアスパラギン酸のラセミ化反応速度定数に及ぼす影響	3 9
III-3-5	アスパラギン酸の異性体比と ¹⁴ C年代に記録された堆積環境の変動	4 4
III-4	まとめ	4 4
IV	<i>Pulleniatina obliquiloculata</i> を用いたアスパラギン酸のラセミ化反応による過去2万年までの海底堆積物の年代測定	4 7
IV-1	はじめに	4 7
IV-2	結果	4 8
IV-2-1	<i>P. obliquiloculata</i> と全種類の有孔虫に含まれるアミノ酸含有量の比較	4 8
IV-2-2	<i>P. obliquiloculata</i> に含まれるアスパラギン酸の異性体比の変動	4 8
IV-2-3	<i>P. obliquiloculata</i> の ¹⁴ C年代	5 1
IV-2-4	<i>P. obliquiloculata</i> のアスパラギン酸の $\ln[(1+D/L)/(1-D/L)]t$ と ¹⁴ C年代の関係	5 1
IV-2-5	放物線モデルによる <i>P. obliquiloculata</i> のアスパラギン酸の異性体比と ¹⁴ C年代の関係	5 5
IV-3	考察	5 5
IV-3-1	<i>P. obliquiloculata</i> と全種類の有孔虫とのアミノ酸含有量及びアスパラギン酸の異性体比の比較	5 5
IV-3-2	<i>P. obliquiloculata</i> のアスパラギン酸の $\ln[(1+D/L)/(1-D/L)]t$ と ¹⁴ C年代の関係	5 8
IV-3-3	放物線モデルによる <i>P. obliquiloculata</i> のアスパラギン酸の異性体比と ¹⁴ C年代の関係	5 9

IV-3-4	アスパラギン酸のラセミ化反応速度定数と文献値との比較	6 0
IV-4	まとめ	6 2
V <i>P. obliquiloculata</i> を用いたアスパラギン酸のラセミ化反応による過去 33万年までの年代測定		
V-1	はじめに	6 4
V-1-1	有孔虫の酸素同位体比曲線から見積もる年代測定法	6 5
V-2	結果	6 5
V-2-1	柱状試料2PCに含まれる <i>P. obliquiloculata</i> のアミノ酸の異性体比 の鉛直分布	6 5
V-2-2	柱状試料2PCに含まれる <i>P. obliquiloculata</i> の酸素同位体比の変動	6 5
V-2-3	柱状試料2PCに含まれる <i>P. obliquiloculata</i> のアミノ酸の異性体比 と ¹⁴ C年代の関係	6 8
V-3	考察	7 0
V-3-1	各アミノ酸のラセミ化反応速度について	7 0
V-3-2	アスパラギン酸、グルタミン酸、イソロイシンのラセミ化反応速度 定数について	7 3
V-3-3	アスパラギン酸、グルタミン酸、イソロイシンのラセミ化反応速度 定数と文献値との比較	7 5
V-3-4	アスパラギン酸、グルタミン酸、イソロイシンのラセミ化反応速度 定数と測定可能年代範囲の検討	7 7
V-4	まとめ	8 1
VI アスパラギン酸のラセミ化反応を利用した西部太平洋の海底堆積物の		

年代測定を試み	8 3
VI-1 はじめに	8 3
VI-1-1 帯磁率により年代を見積もる方法	8 3
VI-2 結果	8 4
VI-2-1 柱状試料(3bPC)に含まれる <i>P. obliquiloculata</i> のアスパラギン酸の 鉛直分布	8 4
VI-2-2 <i>P. obliquiloculata</i> のアスパラギン酸年代と酸素同位体比年代の比較	8 7
VI-3 考察	8 7
VI-3-1 堆積物3bPC上部で現れたアスパラギン酸年代と酸素同位体比年 代の差について	8 7
VI-3-2 堆積物3bPC下部で現れたアスパラギン酸年代と酸素同位体比年 代の差について	8 9
VI-4 まとめ	9 0
VII 結語	9 2
謝辞	9 5
引用文献	9 6

要旨

本研究の目的は、炭酸塩堆積物に存在する浮遊性有孔虫殻に含まれるアミノ酸のラセミ化反応による過去 $10^5 \sim 10^6$ 年スケールの年代測定法の確立である。なぜなら、古環境の解析においてもっとも重要視されている、過去 $10^5 \sim 10^6$ 年スケールの海底堆積物の年代測定に実用可能な年代測定法はほとんどないためである。

アミノ酸にはL体とD体の二つの光学異性体が存在する。一般に生体のアミノ酸はL体で、生物の死後、ある速度でD体へと変化する。このラセミ化反応は一次反応速度則に従って進行し、ラセミ化反応速度定数(k)はアミノ酸の異性体比(D/L)とそれに対応する年代(t)が決まると以下の式で求めることができる。

$$\ln[(1+D/L)/(1-D/L)]_t - \ln[(1+D/L)/(1-D/L)]_{t=0} = 2 \cdot k \cdot t$$

温度に変動がなければ、k値は一定でラセミ化反応は時間に依存して進行していく。従って、k値とアミノ酸の異性体比を求めることで、上記の式を用いて年代を算出する事ができる。

そこで本研究では精度のよいアミノ酸のk値を決定する事に焦点をおき、その値によってどの程度の年代まで遡ることができるのかを確かめた。

試料は西部太平洋赤道域で採取された炭酸塩堆積物である。まず過去2万年にわたる海底堆積物から、有孔虫を取り出し、全種の有孔虫試料でアミノ酸の異性体比分析をガスクロマトグラフ法で行った。その際、堆積物の年代が新しいため、アミノ酸の中でもラセミ化反応速度の比較的速いアスパラギン酸に注目した。また、堆積物の年代を同じく全種類を用いた有孔虫試料に関して ^{14}C 法で求め、上の式よりk値を求めることを試みた。

その結果、有孔虫を全種類で使用した際、精度よくk値を求めることができない場合があることがわかった。これは堆積物が地質時代を通じて、溶解の影響を受けた際、一部のアミノ酸が殻から滲みだし、その度合いによっては殻に残ったアミノ酸のk値を変えてしまう可能性があるためである。従って、アミノ酸の分析には溶解に対して比較的強い有孔虫を単一種で用いることが重要であることがわかった。

次に、同じ約2万年までの堆積物から、本試料に含まれていた全有孔虫種の中でも優占種であり、溶解に対して比較的強い種である *Pulleniatina obliquiloculata* を選別し、殻の中のアスパラギン酸の異性体比を分析し、k値を再び求めたところ、 $0.73 \times 10^{-5} \text{yr}^{-1}$ という値が得られた。

さらに適用年代を広げるために、過去33万年の柱状堆積物試料より *P. obliquiloculata* を選別し、アスパラギン酸に加えて、グルタミン酸、イソロイシンのk値をそれぞれ求めた。グルタミン酸、イソロイシンは本試料中、アスパラギン酸に次いで有孔虫殻中に比較的多く含まれ、アスパラギン酸より、ラセミ化反応速度の遅いアミノ酸である。また、対照年代は ^{14}C 年代と酸素同位体比曲線の氷期-間氷期変動から見積もった年代を用いた。

その結果、アスパラギン酸のk値は年代によって二つ得られ、現在から25,000年までの範囲で $0.94 \times 10^{-5} \text{yr}^{-1}$ 、25,000～330,000年までの範囲では、 $0.99 \times 10^{-6} \text{yr}^{-1}$ と見積もられた。グルタミン酸、イソロイシンは現在から330,000年までの範囲で $0.45 \times 10^{-6} \text{yr}^{-1}$ 、 $0.88 \times 10^{-6} \text{yr}^{-1}$ とそれぞれ見積もられた。アミノ酸のラセミ化反応は異性体比が1になるまで一次反応速度則に従い、一定の反応速度定数で進行する。従って、反応の終点までこのk値が使えるとの前提のもとでこれらを使いわけることにより、深層水温下で、 $10^3 \sim 10^6$ 年の幅広い年代範囲の海底堆積物の年代を求めることが可能であることがわかった。又、三つのアミノ酸の中でアスパラギン酸のk値が最もばらつきの少ないデータセットから得られ、グルタミン酸、イソロイシンに比

べて精度が高いと判断された。

以上の結果から得られたアスパラギン酸の k 値を用いて、実際に過去27万年にわたる炭酸塩堆積物の年代を求めることを試みた。その結果は、従来海底堆積物に用いられる、酸素同位体比曲線の氷期-間氷期変動から見積もった年代と差がみられる部分もあったが、ほぼ矛盾のない年代値を示した。よって、アミノ酸のラセミ化反応年代測定法が $10^4 \sim 10^6$ 年スケールの海底堆積物の年代を求める数少ない方法の一つとして有効であることが示唆された。

I 緒言

地球は第四紀に入り、氷期-間氷期変動を繰り返し、顕著な気候変動を経験するようになった。この古環境変動を解析することは、将来の地球環境を予測する上で必要不可欠なことである。古環境変動の解析には氷床コアや海底堆積物が主に利用される。その際に重要なことは試料に絶対的な数値として年代を入れることである。

一般に堆積物の年代測定は放射性核種によるもの、生物性炭酸塩殻の酸素同位体比の氷期-間氷期変動から見積もる方法、地球磁場の正逆反転から見積もる方法等が主に用いられてきた。しかしながら、古環境復元に最も重要と思われる第四紀以降の年代スケール ($10^5 \sim 10^6$ 年前) に対応した実用可能な年代の測定法は ^{230}Th - ^{234}U 法 (Bard et al., 1990) を除いて他にはない。ただ、 ^{230}Th - ^{234}U 法は海底堆積物に含まれる各核種の量が小さいという点で汎用には不利であること、最も古くて約35万年前までの試料が限度であるといった欠点がある。そこで少ない試料量で分析が可能な有機物を利用した方法として、堆積物に含まれるアミノ酸のラセミ化反応を年代測定に適用する試みが Hare and Mitterer (1968) 以来行われてきた。例えば、炭酸塩海底堆積物を分析した例 (Bada et al., 1970; Bada and Schroeder, 1972)、貝化石の例 (Wehmiller, 1993; Miller and Bringham-Grette, 1989)、珪藻軟泥の例 (Warnke et al., 1980)、有孔虫の例 (Wehmiller and Hare, 1971; Kvenvolden et al., 1973; King and Neville, 1977; King, 1980; Müller, 1984)、サンゴの例 (Hearty and Aharon, 1988; Goodfriend et al., 1992) 等が報告されている。

アミノ酸のラセミ化反応による年代測定法の原理について述べる。一部のバクテリアを除き、生体の持つアミノ酸はL体とD体の光学異性体のうち、

すべてL体で生物の死後、時間とともに一定の速度でD体へ変化する (Meister, 1965; Lee and Bada, 1977)。このラセミ化反応は一次反応速度則に従って進行し、ラセミ化反応速度定数(k)とD体とL体の比(D/L)とから年代を求める。不斉炭素原子を一つしか持たないアミノ酸を例にとると、D/L値とk値と反応時間(t)の関係は以下の式で表すことができる (Williams and Smith, 1977; Smith et al., 1978; Belluomini and Delitala, 1988; Bada and Protsh, 1973)。

$$\ln[(1+D/L)/(1-D/L)]_t - \ln[(1+D/L)/(1-D/L)]_{t=0} = 2 \cdot k \cdot t \quad (1)$$

(1)式を利用し、他の年代測定法で決めた年代(t)とD/L値から一度k値を求めておけば、あとは目的の堆積物試料のアミノ酸のD/L値を求めることにより、(1)式から年代を求めることが可能となる。

さて、精度良くk値を求めるためには、アミノ酸のおかれた物理化学的環境が一定に保たれていることが重要である。アミノ酸のラセミ化反応速度は金属イオンの存在、pHの変動等により影響をうけるといわれているが (Bada, 1971; Bada and Schroeder, 1972; Bada and Schroeder, 1975; Bada and Man, 1980; Schroeder and Bada, 1976)、深海底における天然レベルでの氷期-間氷期におけるこれらの変動は無視できるものであり、最も大きな影響力を持つのが温度の変化である (Bada and Schroeder, 1975)。しかしながら、太平洋の深海底の場合、氷期-間氷期を通じて殆ど水温に変化がないとされており (Broecker, 1982)、深海底堆積物を試料とする場合、その周囲の微細な環境変化がラセミ化反応速度に与える影響は無視できるものと思われる。

また、試料の内外でアミノ酸の出入りがないことも非常に重要である。

海底堆積物中で有機物は密閉された容器に保存された状態であるのが望ましい。このような理想的な状態にあるのが生物性殻に存在する有機物である。生物性殻中の有機物は、糖タンパク、酸性アミノ酸、ムコ多糖類を多く含み、適当なイオンを電気的に引きつけ、殻の成長の際の鋳型として働く(Weiner and Hood, 1975)。殻が炭酸塩かケイ酸塩かで石化作用が異なるため、含まれる有機物組成が異なる(Degens et al., 1967; King, 1974; King and Hare, 1972)。有孔虫などの生物性炭酸塩殻は、酸性アミノ酸に富み、アスパラギン酸を中心に他のアミノ酸を配した(Y-Asp)_nのβ-シート構造を持つ(Weiner et al., 1976) (図1)。β-シート構造とは、α-ヘリックス構造とともに、タンパク質の基本的な二次構造の一つで、平行に並んだポリペプチド鎖が互いの鎖上のペプチド結合の>C=Oと>NHとの間で形成される水素結合により安定化されている。形成された鋳型の酸性アミノ酸は負電荷を持ち、そこにカルシウムイオンが結合し、溶存の炭酸イオンとの相互作用で石灰化の完成となる。この鋳型有機物は殻内で薄層状に炭酸塩と交互に存在するため(King, 1980)、地質時代を経てよく保存される。また、ケイ藻や放散虫等のケイ酸塩殻形成の場合もアミノ酸が鋳型として重要である。が、ケイ酸塩殻は無定形シリカである。無定形であるために殻は多孔質で分解や溶解に弱い。さらに水を多く含むため、生物の死後のタンパク質の加水分解速度が大きいという特徴を持つ。一方、炭酸塩殻はアラゴナイトかカルサイトの結晶を成すが、有孔虫殻はアラゴナイトより熱力学的に安定で溶解にも強いカルサイトであり、殻の構造が緻密である。よって、ケイ酸塩殻に比べ、有機物の保存もよくアミノ酸の異性体比の分析をはじめ、古海洋環境の変動の記録をその有機物から読みとるのに適した試料といえる。

アミノ酸のラセミ化反応を利用した年代測定法は以下に示す様な長所がある。(1) 異性体比の分析にはアミノ酸にして、数百ナノグラムの試料で

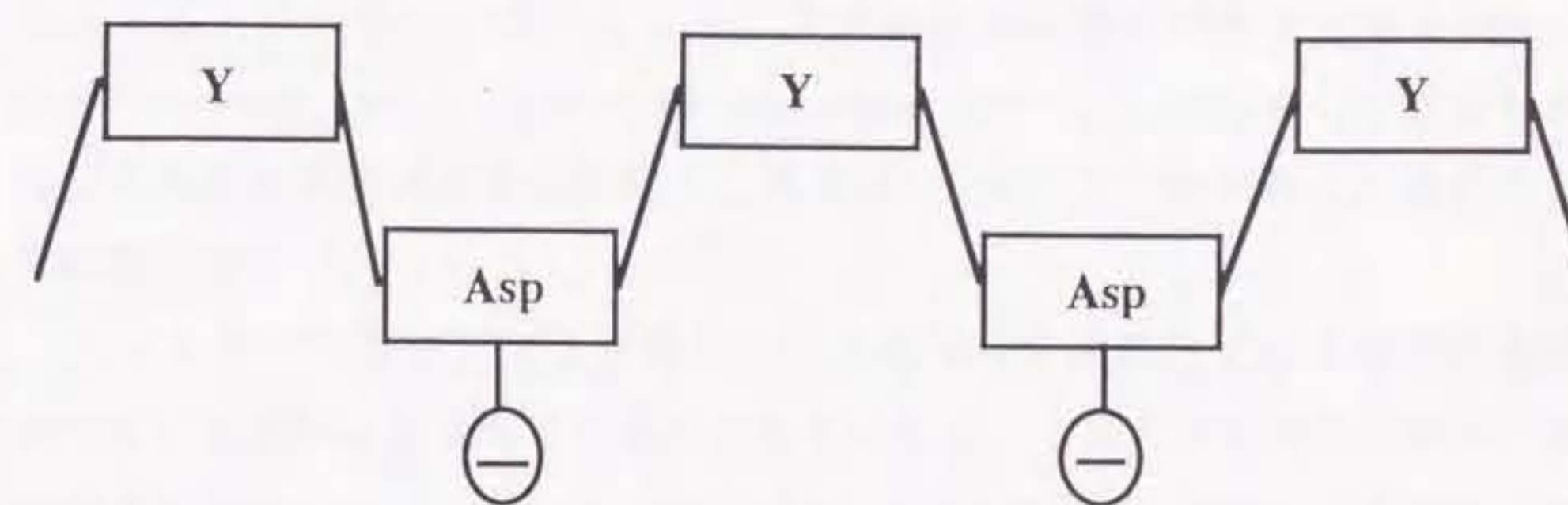


Fig. 1 Schematic illustration of the $(\text{Asp-Y})_n$ sequence.
Y indicates glycine or other amino acids.

分析可能である。しかも液体クロマトグラフィーやガスクロマトグラフィーといった従来からある方法で簡便に行うことができる。(2) アミノ酸は種類によるR基の構造の違いにより、ラセミ化反応速度が様々である(Bada and Schroeder, 1975; Schroeder and Bada, 1976)。このためこの方法が適用できる年代範囲は非常に幅広く、過去 $10^2 \sim 10^6$ 年までの試料に有効である可能性を持つ。

先にも述べた様に、アミノ酸のラセミ化反応年代測定法による海底堆積物の年代測定はこれまでも報告されているが、それらはすべて大西洋の堆積物であり(King and Neville, 1977; Sejrup and Haugen, 1992)、太平洋については報告例がなく、しかも最もラセミ化反応速度の小さいアミノ酸の一つであるイソロイシンを用いた、100~200万年の年代スケールで、大雑把に年代を決めている例が殆どである。そこで、本研究では西部太平洋赤道域の炭酸塩堆積物に存在する浮遊性有孔虫化石に含まれるアミノ酸を用い、数千年から数十万年の年代範囲を精度よく年代決定することに焦点をおくこととし、より精度の良い確かなラセミ化反応速度定数を求め、それによる過去27万年までの海底堆積物の年代の決定を試みた。

最初の研究では、過去20,000年にわたる海底堆積物を用い、それに含まれる浮遊性有孔虫を全種類で処理し、殻の中のアミノ酸の異性体比分析を行い、ラセミ化反応速度定数の決定を試みた。ここでは、試料の堆積物の年代が新しいため、アミノ酸の中で最もラセミ化反応速度の速いアスパラギン酸に注目した(Goodfriend, 1991; Goodfriend and Mayer, 1991)。また、ラセミ化反応速度定数の決定に必要な対照となる年代は、加速器質量分析計により測定された放射性炭素年代を用いた。第IV章では、より精度良くラセミ化反応速度定数の決定を行うために、浮遊性有孔虫の中でも溶解に対して比較的強い種類である *Pulleniatina obliquiloculata* を選び出し、過去20,000

年にわたる単一種の有孔虫によるアスパラギン酸のラセミ化反応速度定数の決定を行った。第V章では、さらに古くまで遡り、過去330,000年にわたる海底堆積物において *Pulleniatina obliquiloculata* のアスパラギン酸、グルタミン酸、イソロイシンのラセミ化反応速度定数の決定を行い、この方法が過去 $10^3 \sim 10^6$ 年の海底堆積物の年代決定に有効であることを確かめた。さらに第VI章では、得られたアスパラギン酸のラセミ化反応速度定数を用いて、過去27万年にわたる海底堆積物の年代測定を行い、従来多く利用される酸素同位体比変動曲線から得られた年代とほぼ一致することが確認された。また、本研究で得られたアスパラギン酸のラセミ化反応速度定数が、過去 $10^3 \sim 10^6$ 年の海底堆積物の年代決定に実用可能であることが確かめられた。

II 方法

II-1 海底堆積物試料

海底堆積物試料採取地点を図2に示す。海底堆積物試料は西部太平洋赤道域のソロモンライズ、オントンジャワ海台にて東大海洋研究所所有の白鳳丸の航海で得られた、KH-79-4 SC-8 (5°00.6'N, 156°08.6'E, 水深3604m)、SC-9 (0°17.5'S, 158°06.7'E, 水深2226m)の2本のボックスコア及び、KH-90-3 2PC (1°10.21'S, 160°00.42'E, 水深2494m)、KH-92-1 3bPC (8°01.07'N, 139°38.53'E, 水深2831m)の2本のピストンコアを用いた。堆積物はいずれも約90%以上が炭酸カルシウムの炭酸塩軟泥である。

SC-8は柱状試料の表層から1cm毎に、SC-9は0.7または1.3cm毎に、2PC及び3bPCは5cmずつ切断した。堆積物試料約7~20gをビーカーにとり、蒸留水でスラリー状にし、湿式篩別(60メッシュ、孔径250 μ m)により、浮遊性有孔虫殻を分離した。篩上の浮遊性有孔虫は蒸留水で泥を洗い流し、一晚風乾し、これを全種類の有孔虫試料とした。また単一種の分析は溶解に対して抵抗性の強い*Pulleniatina obliquiloculata*を顕微鏡下で選別し、この種について行った。

有孔虫は殻の中にかなり泥を含んでいる。それを取り除くために有孔虫殻の超音波洗浄処理を行った。超音波洗浄に関しては、殻の奥に泥が残らないようにあらかじめ殻を瑪瑙乳鉢で砕いた後に、十分な洗浄を行った。この際、つぶしむらのないように薬匙で一匙分ずつ砕き、殻が2~3の破片となるように砕いた。超音波洗浄に要する時間は、砕いた殻より泥が完全に除去されていることを、顕微鏡下で確認した上で決めた。試料の量にもよるが10分で十分泥が除去されることがわかったので常にこの時間で処理を行った。

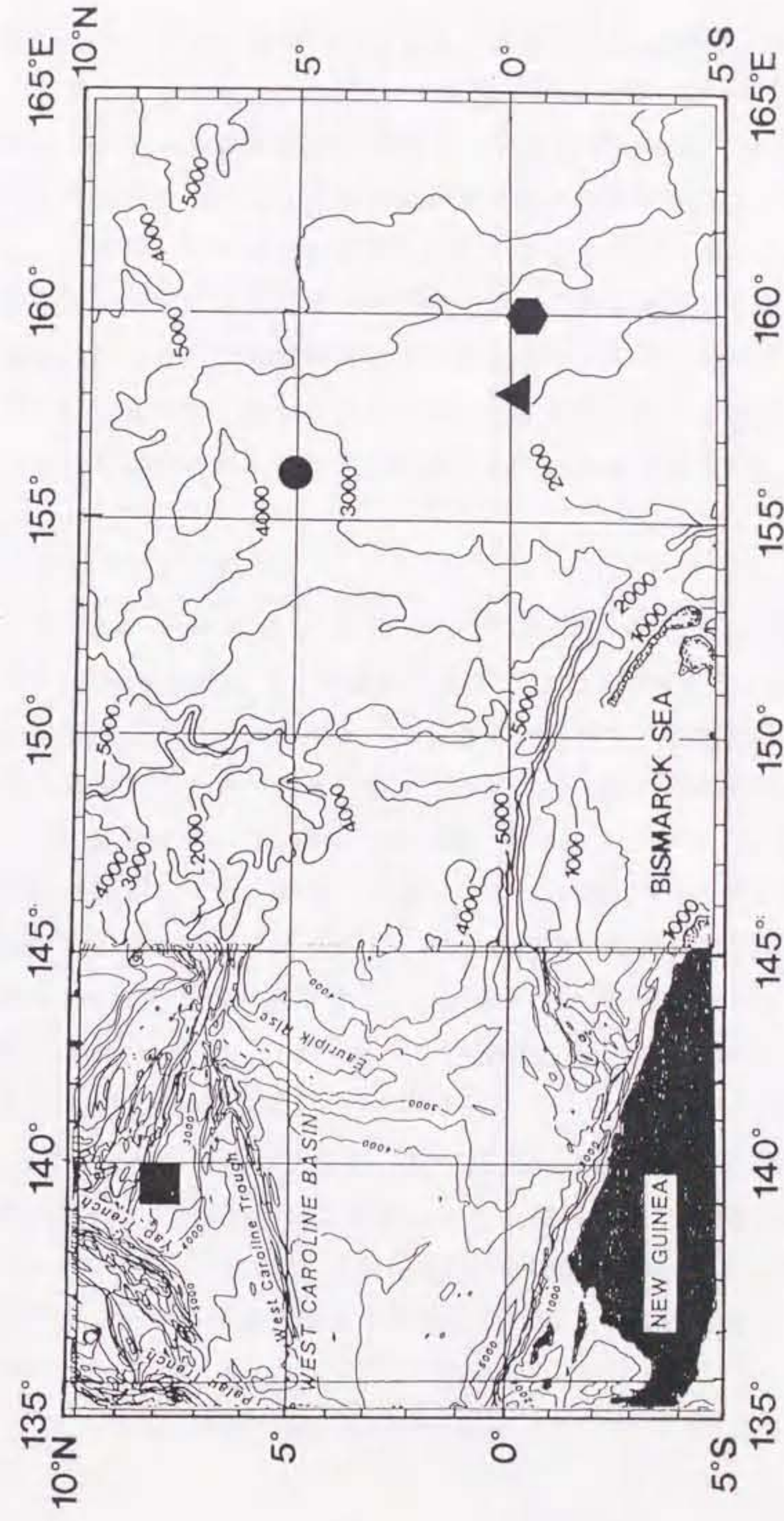


Fig. 2 Sampling sites of box and piston cores at SC-8 (●), SC-9 (▲), 2PC (●), and 3bPC (■) in the western equatorial Pacific Ocean.

Müller and Suess (1977)によると、炭酸塩性の堆積物には多くのフミン物質が吸着し、その約2~4割がアミノ酸であると報告されている。そこで泥を除去した有孔虫殻の表面に吸着している有機物を取り除くために、2Mの塩酸を有孔虫の重量にして約10%が取り除かれる量を加え、化学的洗浄を行った。この際、有孔虫殻の溶かしむらのないように、殻を入れたバイアルに十分な量の蒸留水を加えた中に塩酸を入れ、数時間かけてゆっくりと穏やかに酸処理を行った。塩酸洗浄の後、蒸留水ですすぎ、乾燥させた後、アミノ酸の異性体比分析、放射性炭素年代の測定に用いた。また、アミノ酸組成や異性体比の比較のために塩酸洗浄を行わない試料も用意した。

II-2 アミノ酸分析

塩酸洗浄処理及び未処理の全有孔虫殻試料及び *Pulleniatina obliquiloculata* は、2Mの塩酸で溶解した後、塩酸を加え6Mに調整された。この溶液をスクリーキャップ付きのバイレックス管に入れ、105°C、22時間の条件下でタンパク質の酸加水分解を行った。加水分解後の試料は陽イオン交換樹脂カラム(Dowex 50W-X8, 50-100メッシュ, H⁺型)を通し、アミノ酸の精製を行った。樹脂に吸着したアミノ酸は3Mのアンモニア溶液により溶離し、ロータリーエバポレーターで乾固した。乾固試料に0.02Mの塩酸溶液を1ml加えて再溶解させ、100mlをアミノ酸分析計(日立835型高速アミノ酸分析計)に注入し、ニンヒドリン試薬と混合させ、アミノ酸組成及び含有量の比色定量を行った。

アミノ酸の異性体比分析は前処理として誘導体化を行う。アミノ酸試料の一部(10~20nmol)を反応管にとり真空乾燥器で乾固し、イソプロピルアルコール/塩化アセチル 3.6:1.4(v/v)を100~200ml加え、100°Cで1時間加熱してカルボキシル基のエステル化を行う。その後、窒素ガスで余分な試薬を

気化し、トリフルオロ酢酸無水物/塩化メチレン1:1(v/v)を50~100ml加え、100°Cで10分間加熱し、アミノ基のアセチル化を行い誘導体化を完了した。アミノ酸の誘導体試料は最終的に塩化メチレン溶液として、アミノ酸にして数nmol程度を島津GC-9Aガスクロマトグラフ(FID検出器付き)に注入し、クロマトパック(島津C-R3A)により増幅して得られたアミノ酸のL体とD体のピーク面積から異性体比を算出した。分離に用いたカラムはChirasil-D-VaIWCOTを液相とするシリカ細管カラム(内径0.25mm×カラム長25m)である。分析法はスプリット法で、条件は注入口温度を200°Cに設定し、カラムの昇温プログラムは、103°Cで4分保持し、その後103°C~105°Cまで0.5°C/minで昇温させ、105°Cで2分保持し、105°C~150°Cまで3°C/minで昇温、150°C~200°Cまでは5°C/minで昇温させた。キャリアガスは窒素ガスを用いた。異性体比分析の繰り返し誤差は2~5%の範囲であった。

II-3 放射性炭素年代測定

有孔虫殻試料(全種類の試料及び*Pulleniatina obliquiloculata*)をバイコール管に入れ、真空中で約900°Cで熱分解をさせ、炭酸カルシウムより二酸化炭素を生成させる。得られた二酸化炭素からNakamura and Nakai (1988)の方法により、非結晶性炭素を生じさせ、銀粉と混ぜ合わせ、銀-炭素ターゲットを作り、年代測定用試料とした。また、炭酸カルシウムから直接結晶性炭素を生成させることができる、水素還元法(Vogel et al., 1984; 1987; Kitagawa et al., 1993)によっても年代測定用ターゲットを作成した。この方法は、熱分解によって生成した二酸化炭素を真空ラインで精製し、バイコール管に導入し、超高純度水素ガスを導入した後、封管する。650°Cの電気炉で約4-6時間かけて二酸化炭素をグラファイトに還元し、予めバイコール管に入れておいた1-2mgの鉄粉(Aldrich Chemical Company Inc. 325mesh)に結

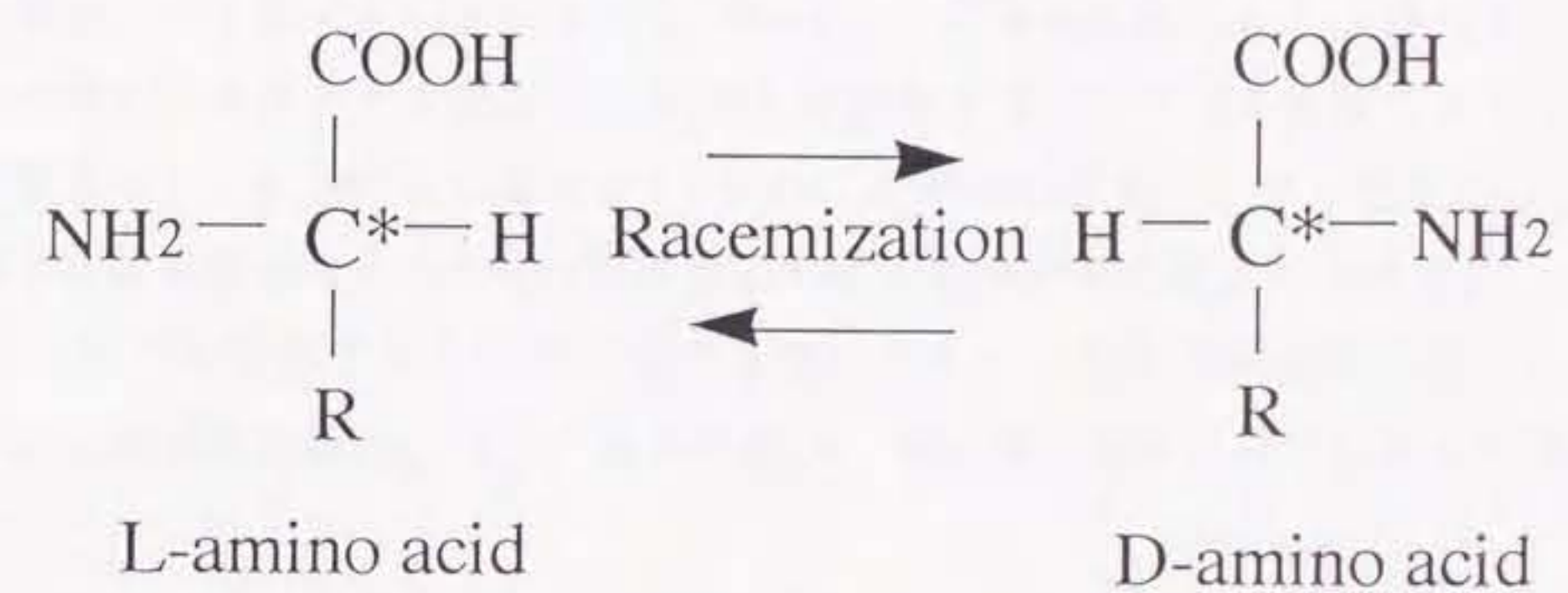
晶化させる。このグラファイトから手動プレス器でターゲットを作り、これをタンデトロン加速器質量分析計(名古屋大学年代資料測定センター)にセットし、計測された $^{14}\text{C}/^{13}\text{C}$ 比からStuiver and Polach (1977)、Stuiver (1983)の計算法により、放射性炭素年代を得た。尚、通常測定用標準試料には、予め年代のわかっている桧及び、NBS シュウ酸(new)を用いた。放射性炭素年代は最終的には過去の大気中の放射性炭素濃度の変動や海洋中のリザーバー効果等の補正を行った。方法はStuiver and Reimer (1993)により開発された補正計算用プログラムCALIB3.0により計算を行った。尚、CALIB3.0で使用されているデータセットは過去2万年までで(Stuiver and Braziunas, 1993; Bard et al., 1993)、2万年より古い年代については過去の大気中の濃度変動に関する補正は行っていない。

II-4 酸素同位体比分析

精製した*Pulleniatina obliquiloculata*を数個体選びだし、真空ラインに導入し、リン酸分解により二酸化炭素を発生させる。真空ラインで精製された二酸化炭素は質量分析計(Finigan MAT 251)にて、標準ガス(PDB)との交互測定を行い、試料の酸素同位体比を得た。尚、一連の分析は全て、北海道大学大学院地球環境科学研究科にて行った。

II-5 ラセミ化反応年代測定法の原理

アミノ酸はL体とD体の光学異性体を持つ。我々人間を含め、生物が合成するアミノ酸はL体のみである(一部のバクテリアを除く; Meister, 1965; Lee and Bada, 1977)。生体の死後、L体のアミノ酸は温度一定のもとで時間の経過とともにある一定の速度でD体へと変化し、生成したD体も時間の経過とともにL体へと変化していく(図3)。L体とD体が平衡になるまで



* Chiral carbon

R: Radical group

Fig. 3 Mechanism of racemization reaction of amino acids having one chiral carbon.

ラセミ化反応は進行し、平衡に達したとき（異性体比が1）が見かけ上の反応の終点であり、理論的にはこの時までラセミ化反応による年代測定が可能となる。

アミノ酸のラセミ化反応は可逆の一次反応で進行する。多くのアミノ酸の場合、不斉炭素原子を一つしか持たないので、L体からD体への反応速度定数(k_1 ; 単位は時間⁻¹)とD体からL体への反応速度定数(k_2)は等しいと考えられるが、イソロイシンやトレオニンのように不斉炭素原子を二つ持つ場合、構造の違いによりラセミ化反応における安定度が違うため（活性化エネルギーが異なる）、 $k_1 = k_2$ とはならない。またこの時の反応をエピマー化反応（二つの不斉炭素原子のうち α 位の炭素原子で生じるラセミ化反応）と呼ぶ。

今、不斉炭素原子を二つ持つ場合を例にとると、反応時間(t)が経過したときの反応速度定数(k_1, k_2)と各異性体(L, D)の量の関係は以下のように表される。

$$-dL/dt = k_1 L - k_2 D \quad (2)$$

$$-dD/dt = k_2 D - k_1 L \quad (3)$$

また t 時間後の異性体比の変化は次のように表すことができる。

$$d(D/L)/dt = 1/L^2 (L \times dD/dt - D \times dL/dt) \quad (4)$$

さらに(2)と(3)を(4)に代入して整理すると以下の式で表される。

$$\begin{aligned} d(D/L)/dt &= 1/L^2 [-L(k_2 D - k_1 L) + D(k_1 L - k_2 D)] \\ &= k_1 (1 - k_2 D/k_1 L) (1 + D/L) \end{aligned} \quad (5)$$

(5)式を積分して

$$\begin{aligned} \int d(D/L) / [(1-k_2 D/k_1 L)(1+D/L)] &= \int k_1 dt \\ \int [1/(1-k_2 D/k_1 L) - 1/(1+D/L)] d(D/L) &= (1+k_2/k_1) \int k_1 dt \\ -\ln(1-k_2 D/k_1 L) + \ln(1+D/L) &= (1+k_2/k_1) k_1 t + C_0 \end{aligned}$$

ここで C_0 は積分定数である。これを整理すると以下の式となる。

$$\ln[(1+D/L)/(1-k_2 D/k_1 L)]t - C_0 = (1+k_2/k_1) k_1 t \quad (6)$$

C_0 は $\ln[(1+D/L)/(1-k_2 D/k_1 L)]t=0$ とかける。ここで、 $\ln[(1+D/L)/(1-k_2 D/k_1 L)]_{t=0}$ はアミノ酸のラセミ化反応の初期値である。試料の処理の際、極少量のD体がタンパク質の加水分解中に形成されてくるため、 $\ln[(1+D/L)/(1-k_2 D/k_1 L)]_{t=0}$ はゼロにはならない(Manning, 1970; Nakaparksin and Oró, 1970)。また、不斉炭素原子が一つのアミノ酸の場合は $k_1=k_2$ となり、以下のように書き換えられる。

$$\ln[(1+D/L)/(1-D/L)]t - C_0 = 2 \cdot k \cdot t \quad (7)$$

ここでも積分定数 $C_0 = \ln[(1+D/L)/(1-D/L)]t=0$ と書き表すことができ、定数となる。

本研究では、イソロイシン、グルタミン酸、アスパラギン酸（構造式は図4参照）のラセミ化反応速度定数をもとめているが、このうちイソロイシンのみが不斉炭素原子を二つ持つアミノ酸である。イソロイシンは、L体か

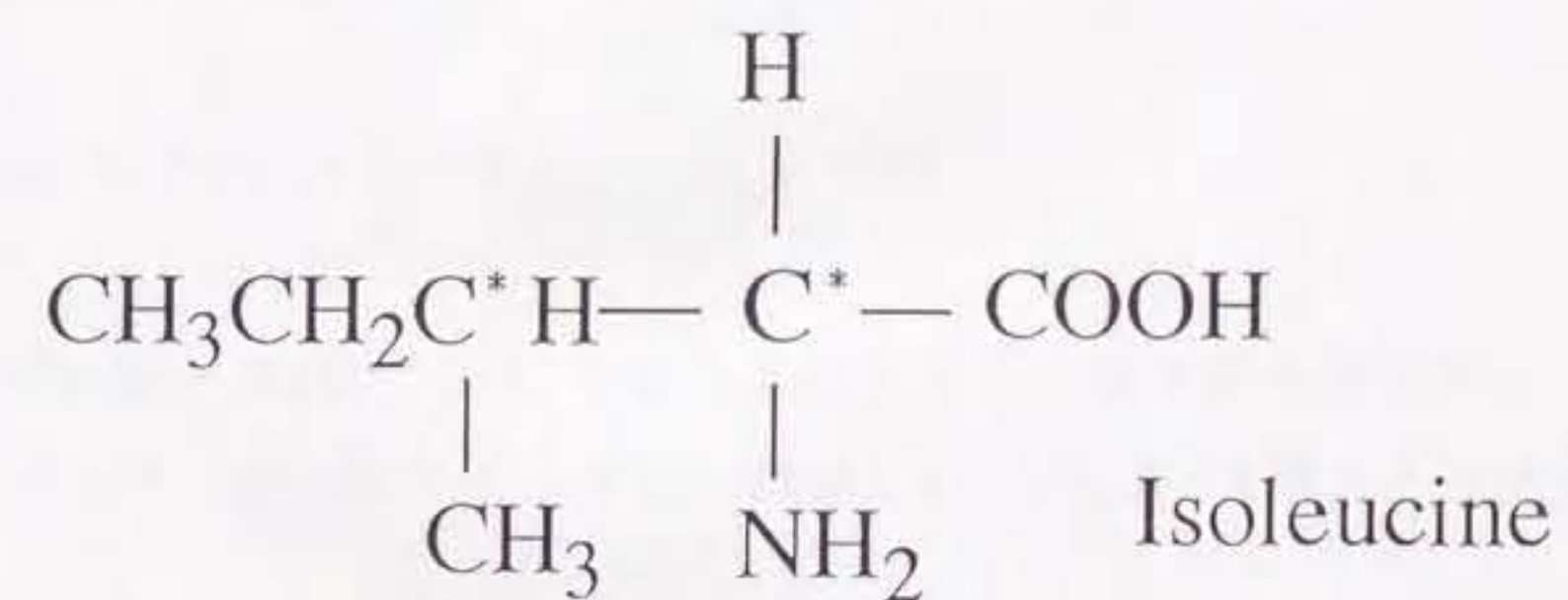
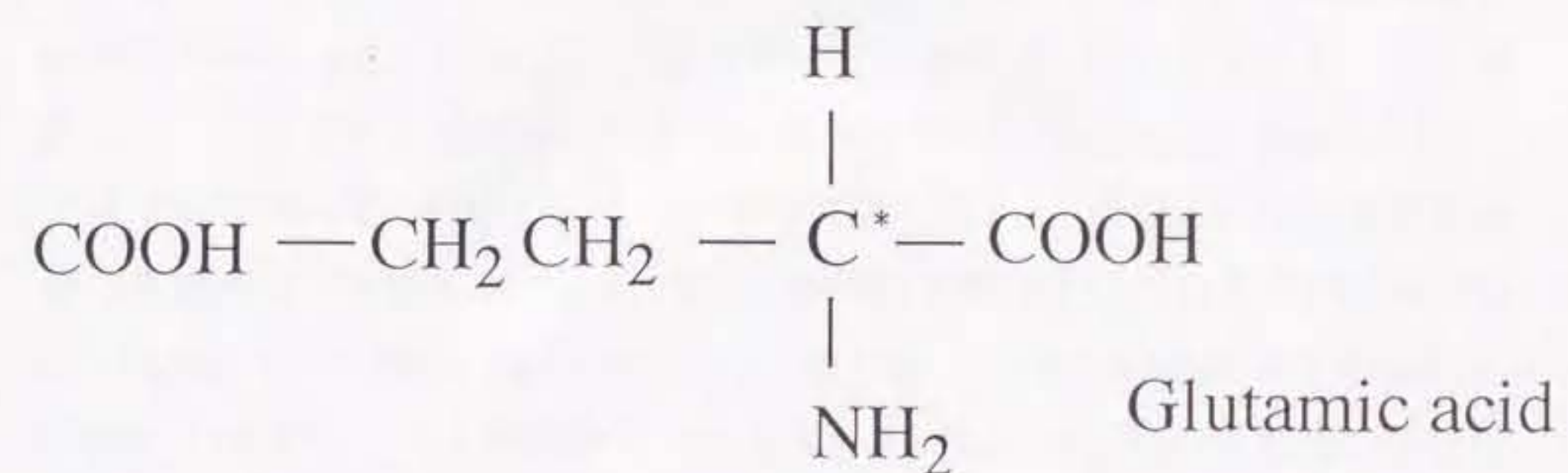
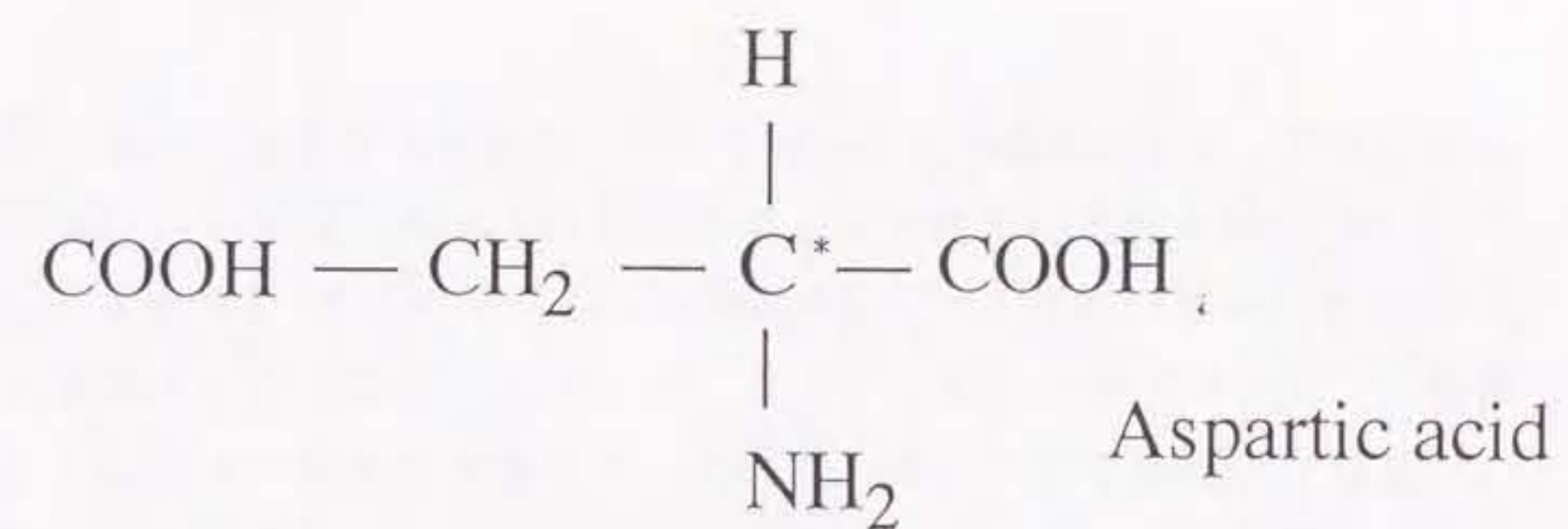


Fig. 4 Structural formula of aspartic acid, glutamic acid, and isoleucine.
* mark indicates chiral carbon.

らD体へ変化するよりもD体のアロイソロイシンへ変換していく割合が大きく(図5)、本研究で(6)式より求めるエピマー化反応速度定数(k_1)はL-イソロイシンからD-アロイソロイシンへ変換していく反応の値である。(6)式で k_1 を求めるためには k_2 (D-アロイソロイシンからL-イソロイシンへ変換していくエピマー化反応速度定数)の値がわかっていなければならない。 k_2 の値を単独で知ることは大変であるが、 k_2/k_1 という形でなら簡単に値を知ることができる。 k_2/k_1 はL-イソロイシンからD-アロイソロイシンへ変換していくエピマー化反応の平衡値の逆数を意味する(Bada, 1985)。L-イソロイシンからD-アロイソロイシンへ変換していくエピマー化反応の平衡値は実験で求められており、1.25~1.40の間と報告されているが(Wehmiller and Hare, 1971; Bada and Schroeder, 1975)、ここではMiller and Brigham-Grette (1989)によって報告されている値1.3を使うと k_2/k_1 は0.77となり、(6)式は以下の様にかける。

$$\ln[(1+D/L)/(1-0.77D/L)]t - C_0 = 1.77 \cdot k_1 \cdot t \quad (6)'$$

よってイソロイシンは(6)'より k_1 を求めることとし、不斉炭素原子を一つしか持たないアスパラギン酸とグルタミン酸は、(7)式により k 値をそれぞれ求めることとした。

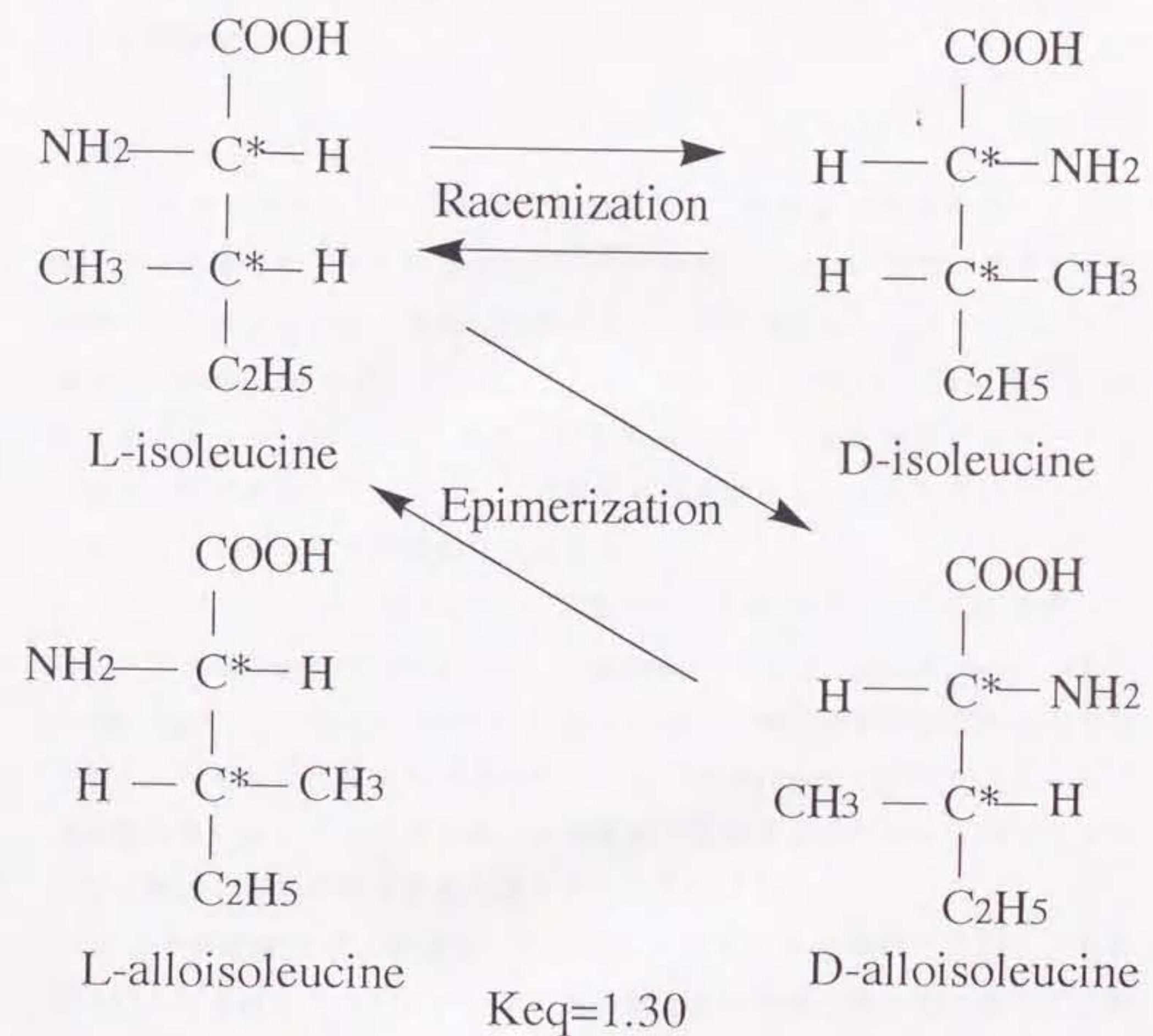


Fig. 5 Mechanism of epimerization reaction of isoleucine

III 浮遊性有孔虫化石を全種類で用いたアスパラギン酸のラセミ化反応による年代測定

III-1 はじめに

これまでに報告されているアミノ酸のラセミ化反応年代測定法による大西洋の海底堆積物の年代決定に用いられてきた有孔虫は、種類分けせずに全種類の有孔虫をまとめて分析した例が多い（例えばBada and Schroeder, 1972; Kvenvolden et al., 1973）。またその殆どが、古い年代の海底堆積物(数百万年スケール)で、アミノ酸の中でも最もラセミ化反応速度が小さいアミノ酸の一つである、イソロイシンに関する報告であり、本研究で注目している数万年スケールの年代範囲には適さない。

一方、アスパラギン酸は、アミノ酸の中でも最もラセミ化反応速度が大きいアミノ酸の一つで(Bada and Schroeder, 1975; Goodfriend, 1991; Goodfriend and Meyer, 1991)、最近では陸上の蝸牛の化石を試料とした数百年スケールの年代測定も試みられている(Goodfriend, 1987a,b)。従って、海底堆積物に関しても比較的新しい地質年代を示すものについては、アスパラギン酸による年代測定が最も適しているといえる。

そこで本研究では、堆積物より分離した有孔虫を全種類で分析し、その殻の中に含まれるアスパラギン酸の異性体比と放射性炭素年代を照らし合わせ、ラセミ化反応速度定数(k値)を求めることを試みた。用いた試料はSC-8とSC-9のボックスコアである。

III-2 結果

III-2-1 有孔虫の種類組成

本堆積物試料に含まれていた有孔虫の種類組成は、SC-8で*Pulleniatina*

obliquiloculata, *Globigerinoides sacculifer*, *Globigerinella aequilateralis*, *Globoquadrina dutertrei*, *Globorotalia menardii*, *Globigerinoides ruber*, *Globigerinoides conglobatus*が多く含まれており、SC-9でも上記に示されたのとはほぼ同じ種類組成を示した。

浮遊性有孔虫の溶解に対して比較的強い種と弱い種の存在割合をBé (1977)の分類に従って、SC-8及び9でどの様になっているか調べた(図6)。SC-9では、柱状試料の上部(NO.1)と下部(NO.30)で、溶解に対して比較的強い種と弱い種の存在割合に違いはなく、全体の5分の2が溶解に対して比較的強い種であり、全体の5分の3が弱い種であった。一方、SC-8では、柱状試料の上部(NO.1)は溶解に対して強い種と弱い種の存在割合がSC-9とよく似た傾向を示したが、下部(NO.22, 25)では顕著に異なり、全体の約7割～8割が溶解に対して比較的強い種、弱い種は全体の約2割程であった。以上、両柱状試料とも主に熱帯及び亜熱帯に属する種が存在するものの、有孔虫種の相対的存在割合は各柱状試料で異なることがわかった。

III-2-2 アミノ酸組成

全有孔虫殻のアミノ酸含有量は、200～400mg/gの範囲であった。図7にSC-9の有孔虫殻中のアミノ酸組成の一例を示す。もっとも多く含まれていたのが酸性アミノ酸であるアスパラギン酸及びグルタミン酸でそれぞれ全体の約20～24%、10～13%であった。ついで中性アミノ酸のグリシン(10～15%)、アラニン(10～12%)の順であり、塩基性アミノ酸(ヒスチジン、アルギニン)含有量は数%以下であった。

塩酸処理を行った試料と、未処理の試料の有孔虫殻中のアミノ酸組成の比較を行った。さらに塩酸処理を施した試料の上澄み液中のアミノ酸組成も図7に示した。塩酸未処理試料のアミノ酸含有量は処理試料に比べ、10～

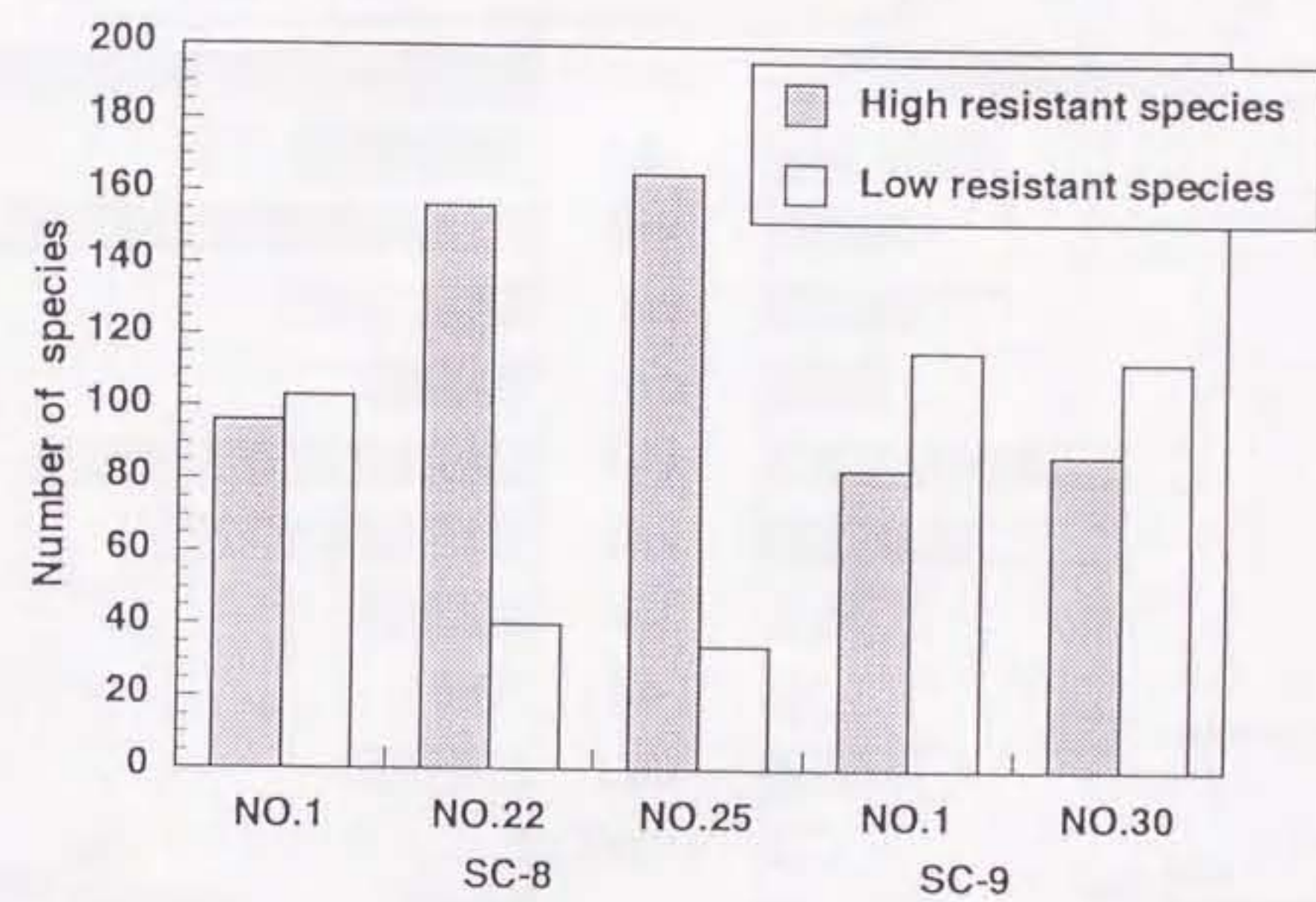


Fig. 6 A comparison of relative amount of planktonic foraminiferal species in SC-8 and 9. The grouping of foraminiferal species is based on Bé (1977).

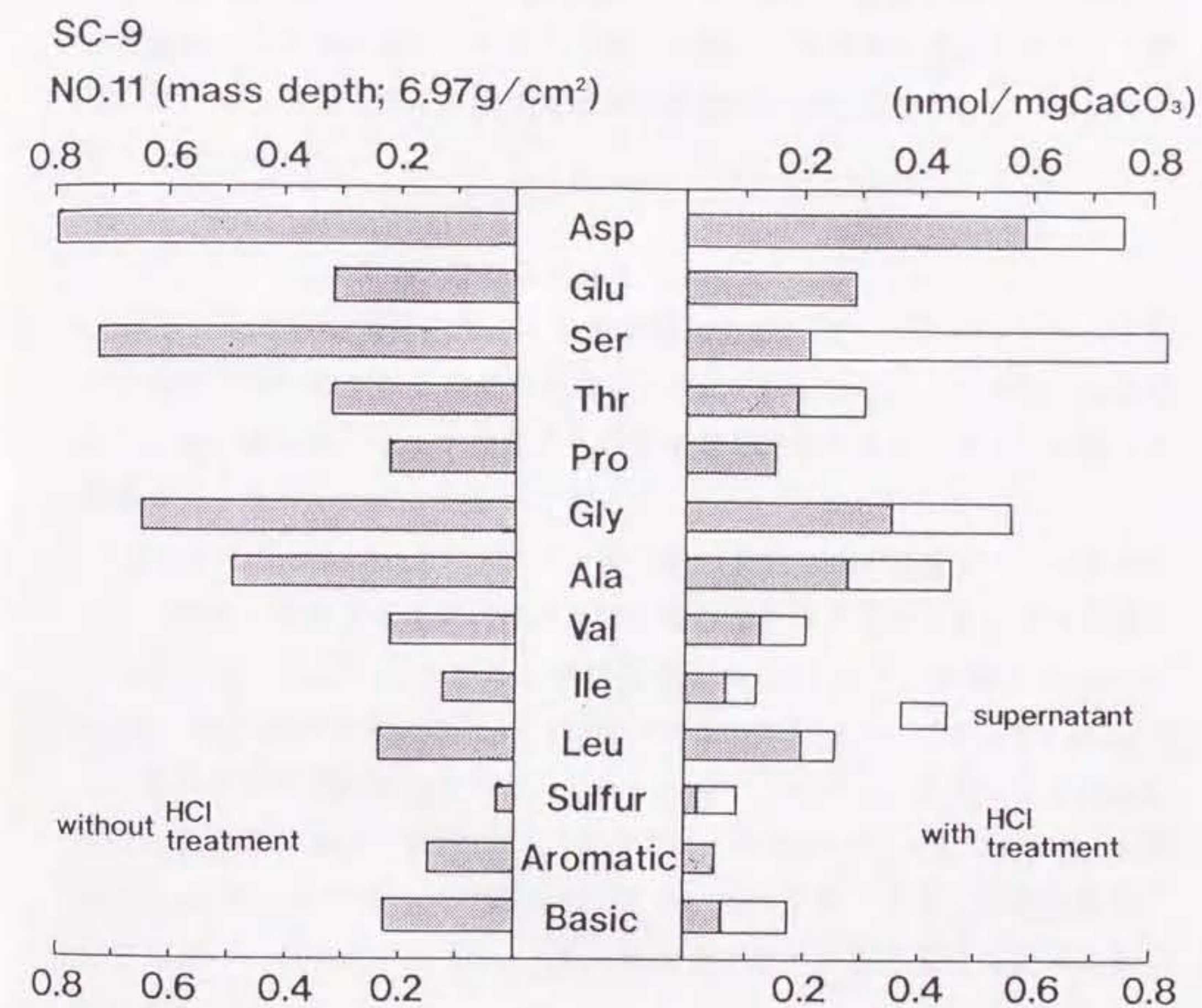


Fig. 7 Comparison of amino acid composition between the foraminiferal tests samples of No.11 of SC-9 treated and untreated with hydrochloric acid.

40%までの範囲で高い値を示した。アミノ酸組成はアスパラギン酸が14～22%ともっとも高い含有量を示した。ついでグリシン(10～17%)やセリン(8～19%)が多く含まれており、処理試料とは異なった組成を示した。他方、塩酸処理後の上澄み溶液中のアミノ酸含有量は、塩酸未処理試料のアミノ酸含有量の10～40%であり、組成はセリンが全体の30%以上を占め、ついでグリシンが20%であった。

III-2-3 アスパラギン酸の異性体比

図8に全有孔虫試料のアミノ酸の異性体分析のガスクロマトグラムを示す。分析に用いたシリカ細管の液相がD-Valであるため、L体が先に検出されている。得られたピーク面積から異性体比を算出するが、各アミノ酸とも異性体の分離が非常によいものであった。

図9と10にSC-8と9のアスパラギン酸の異性体比の鉛直プロファイルを示す。両柱状試料ともアスパラギン酸の異性体比は深さとともにほぼ直線的に増加していることがわかる。異性体比の値はSC-8で、表層(0～1cm)が0.128、柱状試料の最深部(24～25cm)で0.230であった。また、0～10cmまでの層は異性体比の増加がほとんどみられないことから、生物による攪乱を受けた混合層であると判断した。SC-9では、表層(0～0.7cm)で0.073、最深部(29.4～30.7cm)で0.139であった。また、底生生物による生物攪乱層はみられなかった。深さにして15～18cm付近で比較的大きく異性体比が変動していた。

図11にSC-9についての塩酸処理と未処理試料のアスパラギン酸の異性体比の鉛直プロファイルの比較を示す。塩酸処理と未処理とでは各試料の異性体比は少しずつ異なっているものの、回帰直線の勾配にはほとんど差がみられなかった。

SC-8 NO.7(mass depth; 4.60g/cm²)

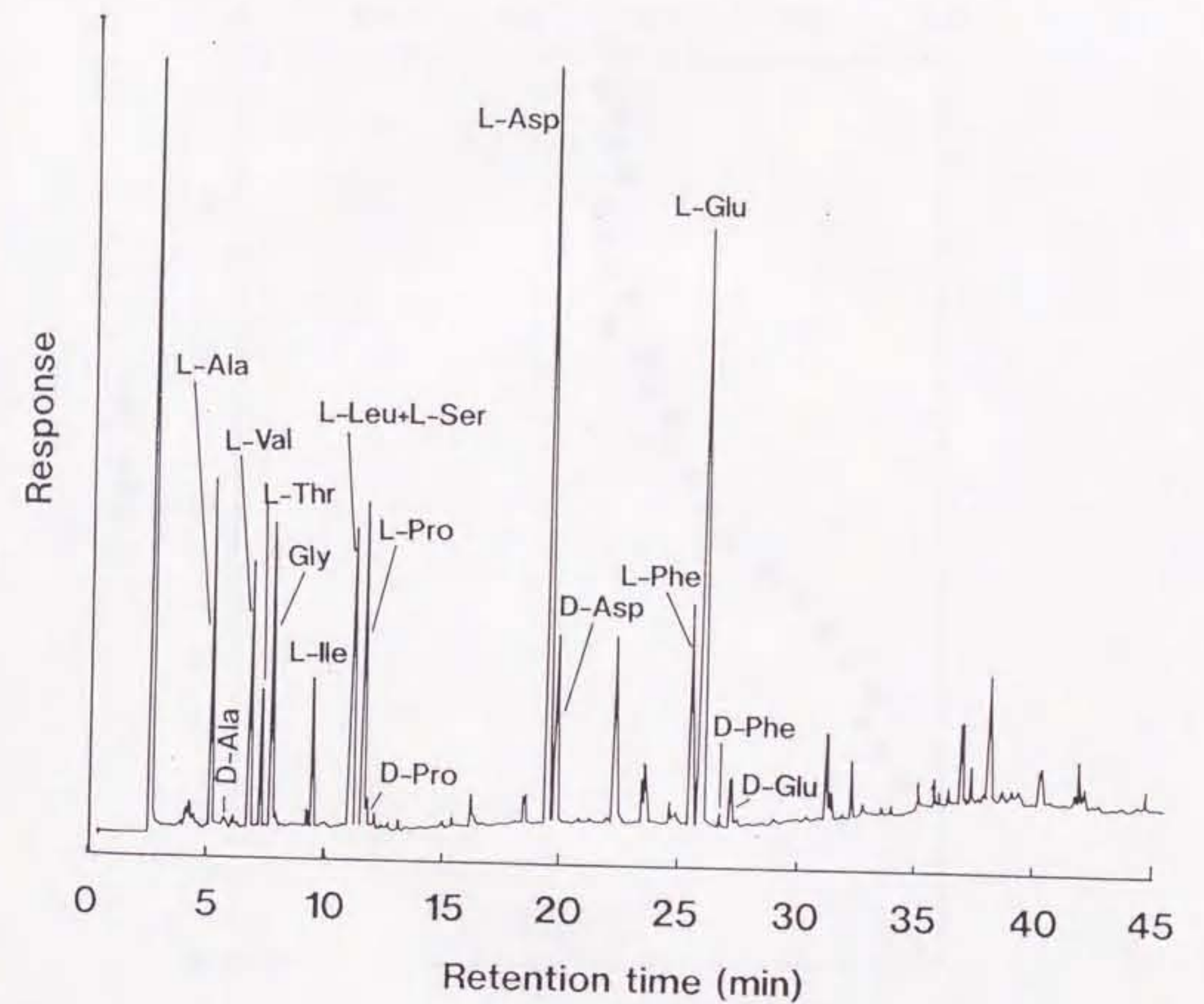


Fig. 8 Gas chromatogram of derivatized amino acid recovered from hydrolysates of foraminiferal tests sample No.7, core SC-8. "L" and "D" indicate isomers of amino acid. Only glycine does not have isomer. Ala: alanine; Val: valine; Thr: threonine; Gly: glycine; Ile: isoleucine; Leu: leucine; Ser: serine; Pro: proline; Asp: aspartic acid; Phe: phenylalanine; Glu: glutamic acid

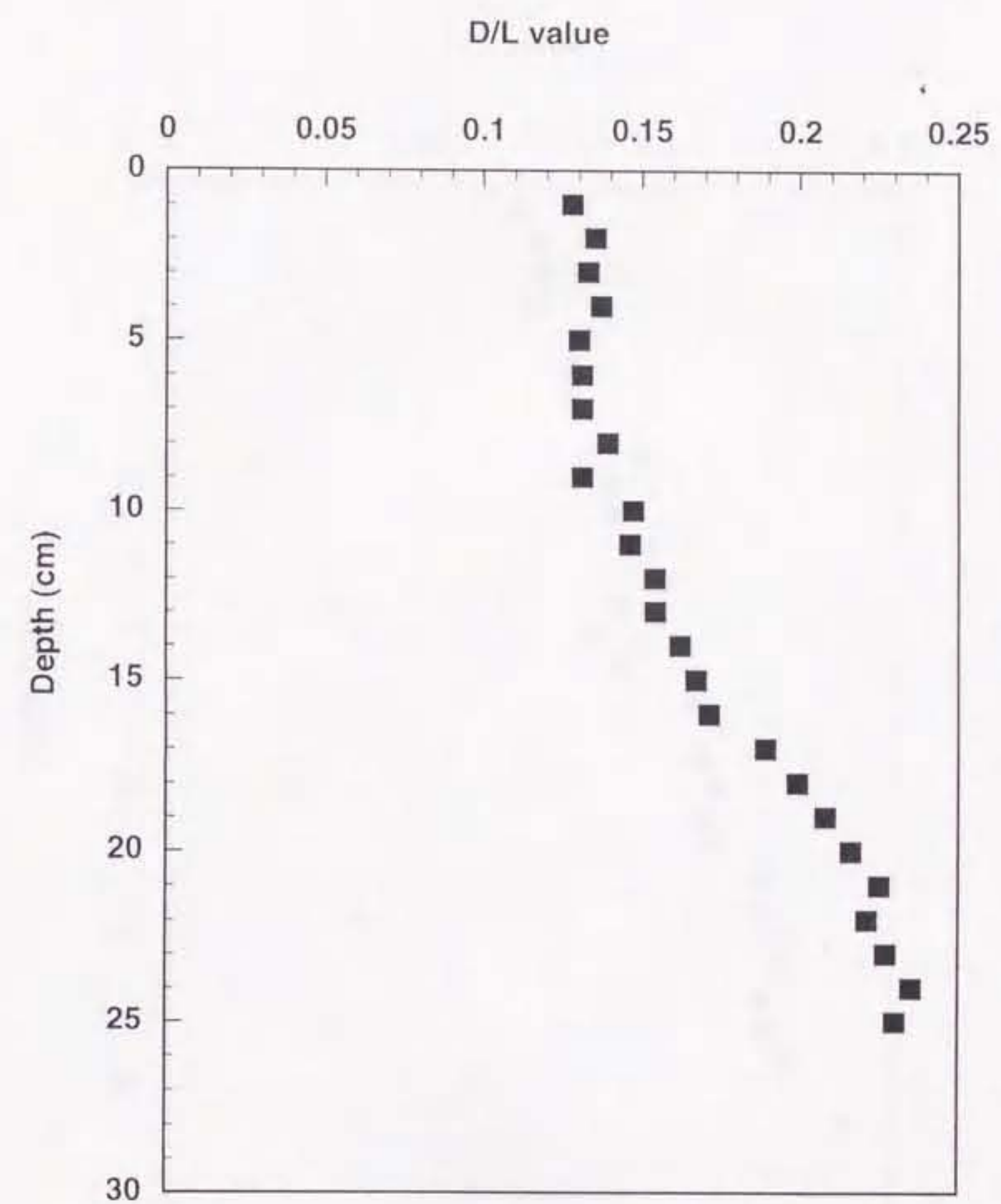


Fig. 9 Vertical distribution of the ratio of aspartic acid isomers in the foraminiferal tests from the core SC-8.

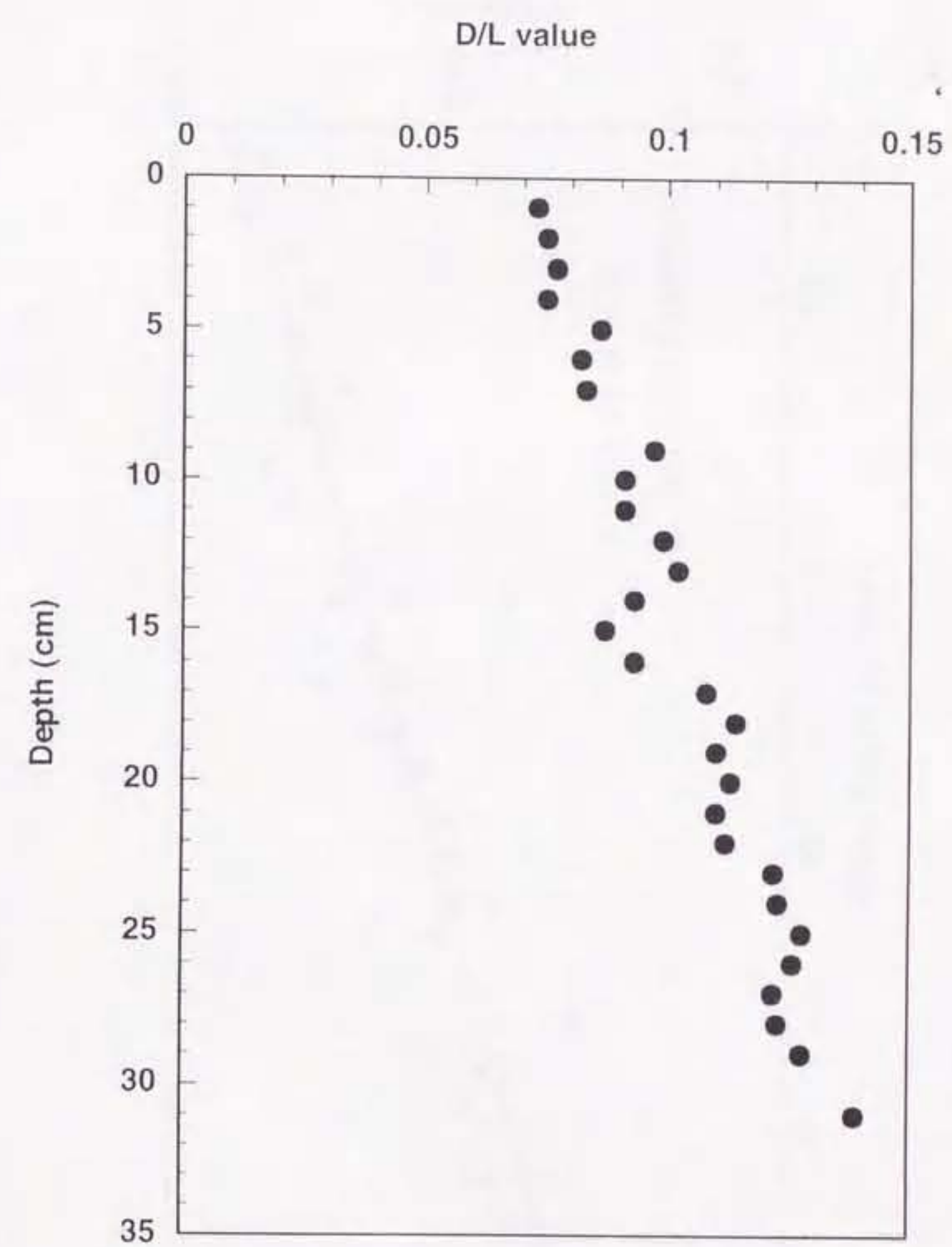


Fig. 10 Vertical distribution of the ratio of aspartic acid isomers in the foraminiferal tests from the core SC-9.

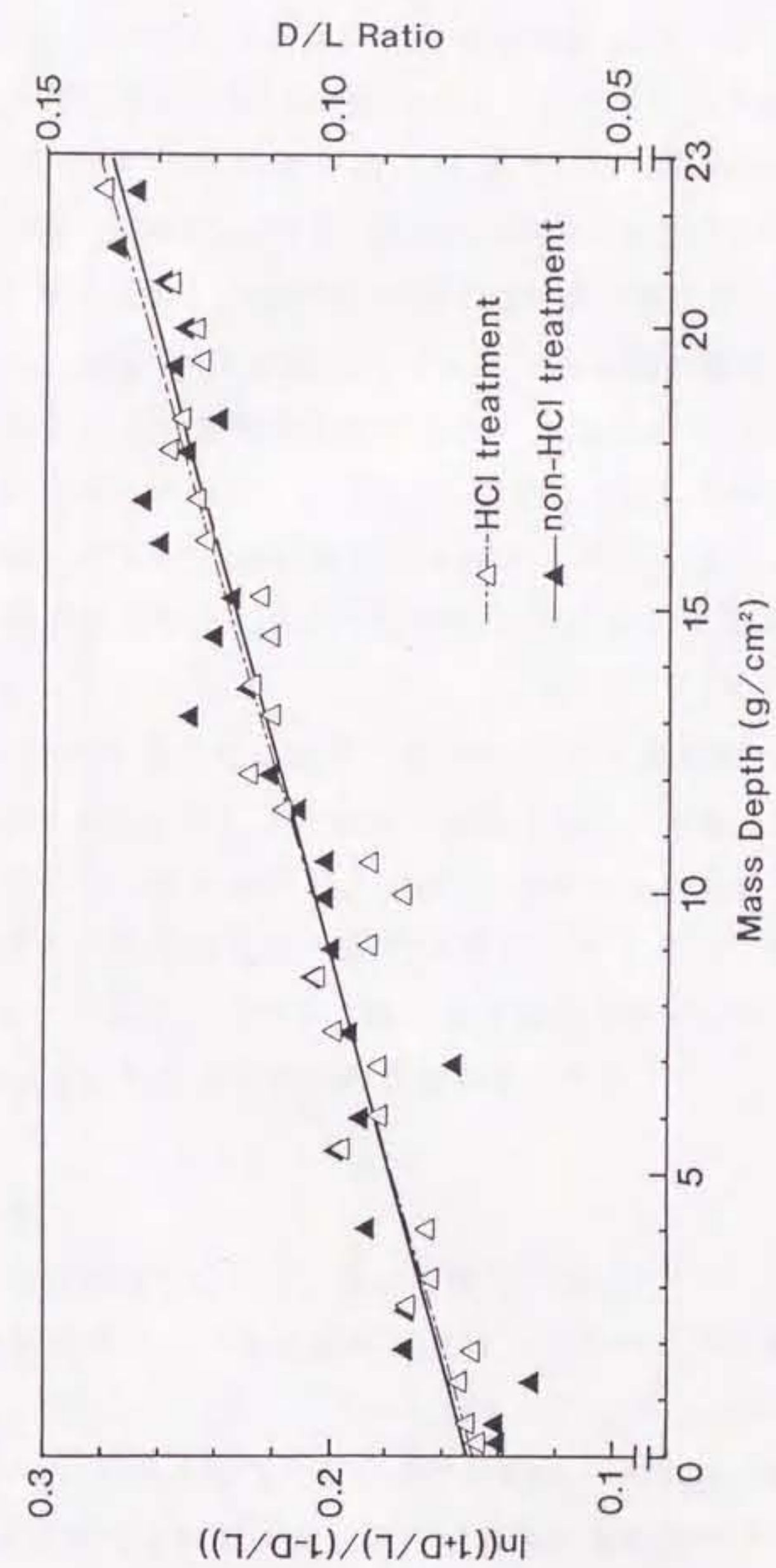


Fig. 11 Comparison of the vertical distribution of the ratio of aspartic acid isomers between the foraminiferal tests from the core SC-9 treated and untreated with hydrochloric acid.

III-2-4 放射性炭素年代

SC-8及びSC-9の有孔虫殻試料の放射性炭素年代 (^{14}C 年代) の鉛直分布を図12(a:未補正年代、b:CALIB3.0のプログラムにより補正された年代)と図13に示す。また年代値を表1に示す。SC-8の補正年代は表層で $6,400 \pm 150$ 年前、深層22cmで $19,280 \pm 250$ 年前を示した。未補正年代を表1でカッコ内に示したが、表層で $6,390 \pm 150$ 年前、最深部25cmで $24,070 \pm 250$ 年前を示した。表層の年代によるとアスパラギン酸の異性体比の鉛直分布で現れていた深さまで生物攪乱層がみられた。先に述べたとおり、 ^{14}C 年代補正プログラムのデータセットは過去2万年分しかないため、それより古い年代に関しては、大気の ^{14}C 濃度変動補正はできない。従って、SC-8の試料については、最深部の年代も含めて考察したいために未補正の ^{14}C 年代で統一して議論することとした。

他方、SC-9の補正年代は表層で $2,350 \pm 90$ 年、最深部で $10,820 \pm 130$ 年であった。表層は底生生物による攪乱の影響はみられなかった。底層の年代は完新世のはじめの時期にあたり、全体的にSC-8よりも新しい年代の堆積物であった。また、両柱状試料とも ^{14}C 年代は深さとともに増加の傾向を示し、その変動のもようはアスパラギン酸の異性体比の鉛直分布とよく似ており、約15~18cmにやはり大きな年代の変動がみられた。

III-3 考察

III-3-1 有孔虫殻中のアミノ酸含有量及び組成

全有孔虫試料のアミノ酸組成の結果は、アスパラギン酸が20%、グルタミン酸12%、グリシン11%、アラニン11%、トレオニン8%、プロリン8%、セリン7%、バリン6%となり、これまでにKing (1980)、King and Hare (1972)らにより報告されていた16種の浮遊性有孔虫殻のアミノ酸組成とよく

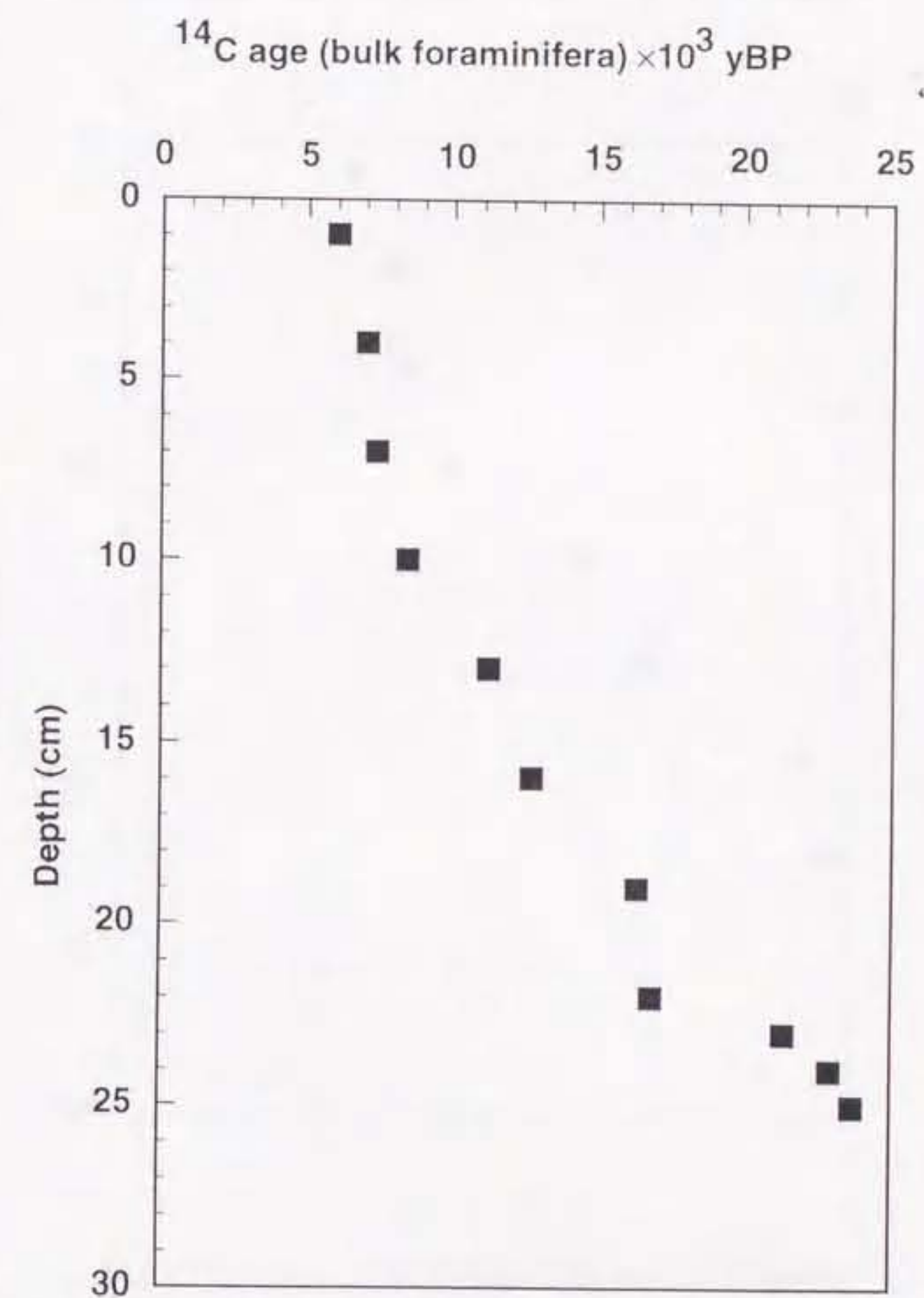


Fig. 12(a) Vertical distribution of raw ^{14}C ages of foraminiferal tests from the core SC-8.

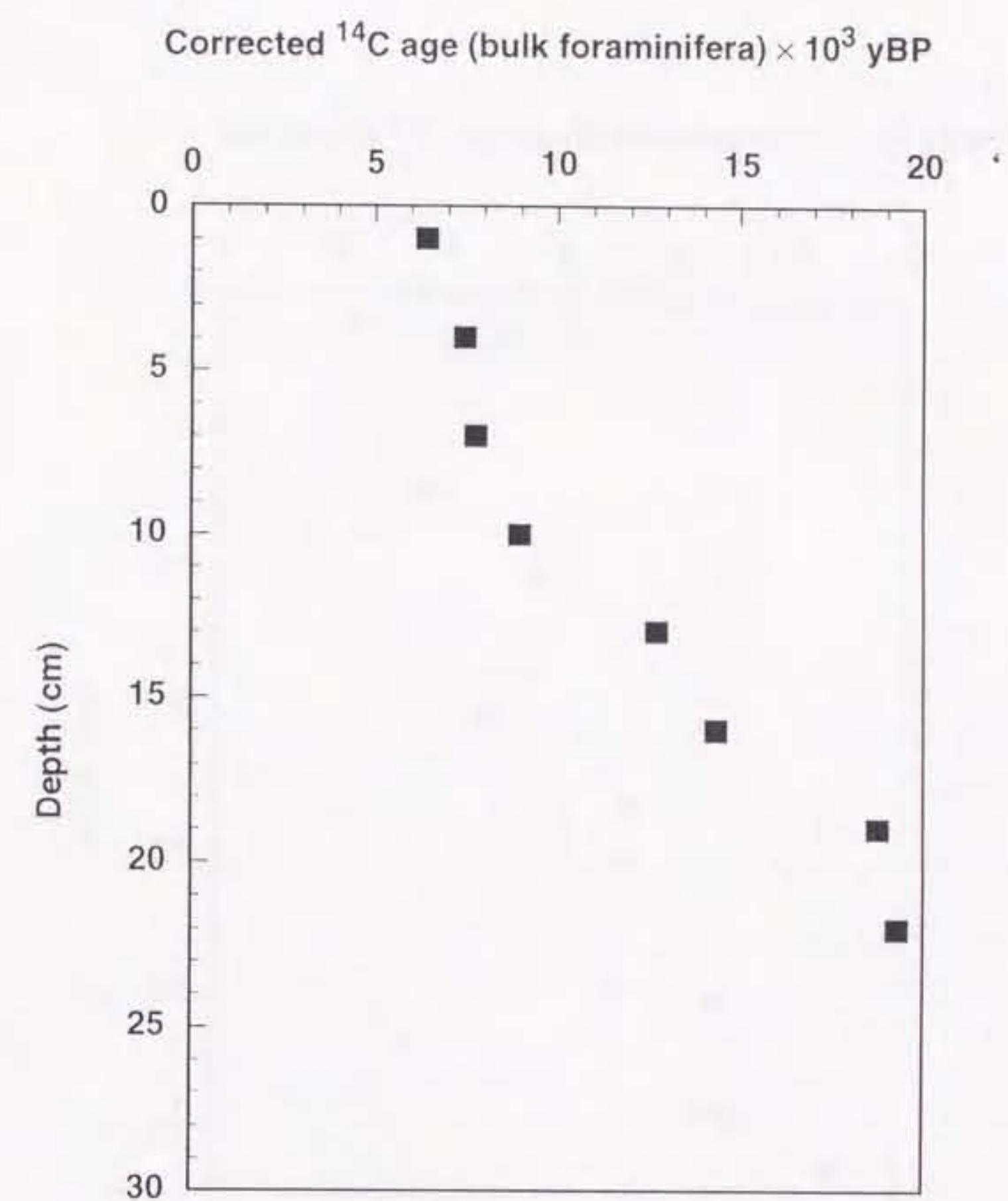


Fig. 12(b) Vertical distribution of corrected ^{14}C ages of foraminiferal tests from the core SC-8.

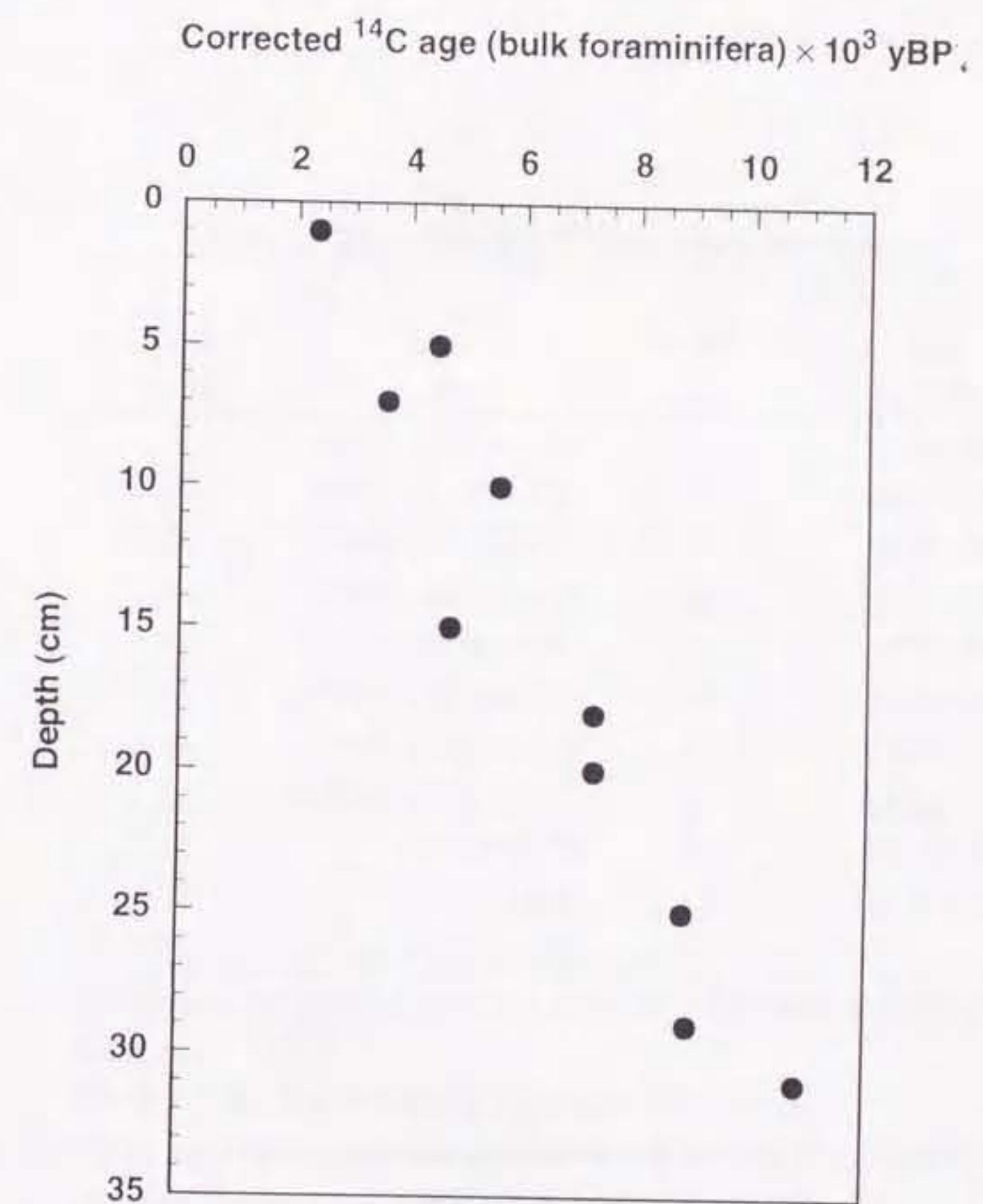


Fig. 13 Vertical distribution of corrected ^{14}C ages of foraminiferal tests from the core SC-9.

Table 1. The calibrated ^{14}C age of bulk foraminifera

SC-8		SC-9	
Depth (cm)	age (yBP)	Depth (cm)	age (yBP)
1	6400 (6390) \pm 150	1	2350 \pm 90
4	7440 (7400) \pm 150	5	4480 \pm 130
7	7760 (7750) \pm 110	7	3600 \pm 80
10	8960 (8810) \pm 140	10	5570 \pm 150
13	12710 (11580) \pm 150	15	4720 \pm 80
16	14330 (13070) \pm 120	18	7240 \pm 90
19	18760 (16680) \pm 120	20	7250 \pm 170
22	19280 (17180) \pm 190	25	8820 \pm 100
23	- (21710*) \pm 170	29	8910 \pm 100
24	- (23310*) \pm 210	31	10820 \pm 130
25	- (24070*) \pm 250		

References for age datasets used: Stuiver and Braziunas (1993) and Bard *et al.* (1993).

For SC-8, the raw ^{14}C ages are given in parentheses.

* The age calibration were not carried out beyond 20,000 yBP because the datasets of this program were to 20,000 yBP.

一致していた。アミノ酸含有量に関しては、200~400mg/gと、現世から約8万年前までの化石有孔虫試料についての報告値 (Degens, 1968) とよく似た値であった。また、硫黄を含むアミノ酸であるメチオニンの含有量が低いのは、熱に対して不安定なため、試料の加水分解処理中に酸化分解をうけてほとんど検出できなかったものと思われる。シスチンについても同様の理由で過小評価となっている可能性がある。

塩酸処理試料と未処理試料とでアミノ酸の組成に違いがみられた。塩酸未処理試料にはセリン及び、グリシンが特に多く、塩酸処理試料の倍以上の量が含まれていた。この特徴的な組成は塩酸処理を行った後の上澄み溶液のアミノ酸組成でも見い出された。浮遊性有孔虫は海水中で藻類と共生している例が多く (Faber et al., 1988)、特にSpinose種と呼ばれる、殻表面に突起を持つGlobigerina属、Globigerinoides属、Globigerinella属等に顕著にみられる。有孔虫の死後、水中を沈降する間や海底に沈積し堆積物に埋没した際、共生藻類が分解を受け、残骸の有機物が有孔虫殻表面に吸着している可能性がある。また周囲の堆積物中に存在する有機物が有孔虫の殻に選択的に吸着をおこしていることも考えられる (Müller and Suess, 1977; Carter, 1978)。塩酸処理をした試料の方が従来の報告値に近いアミノ酸組成を示していることから、有孔虫殻表面には汚染有機物の吸着があり、それを除去するために分析前の塩酸処理は必要と考えられる。しかしながら、異性体比に関しては塩酸処理試料と未処理のものとのそれぞれの値に違いはあるものの、回帰直線の勾配に差はみられず、殻の表面に吸着しているアミノ酸の存在はラセミ化反応速度定数の見積もりには影響を及ぼさないことがわかった。実際、これまでの異性体比分析の報告では超音波洗浄のみで化学的洗浄を行っていない例もある (Bada and Schroeder, 1972)。

III-3-2 アスパラギン酸のラセミ化反応速度定数

ラセミ化反応を年代測定法として利用するためには、温度一定という条件のもとにラセミ化反応速度定数(k)を求める必要がある。先にも述べたようにアミノ酸のラセミ化反応速度は種類により異なる。本研究で用いた柱状試料は得られた ^{14}C 年代より、最終氷期以降のかなり新しい年代をもつ試料である。このため、ラセミ化反応速度のもっとも速いアミノ酸であるアスパラギン酸に注目し、(7)式を用いてアスパラギン酸の異性体比と ^{14}C 年代の関係から、ラセミ化反応速度定数(k_{Asp})を求めることとした。

SC-8に関して、 $\ln[(1+D/L)/(1-D/L)]t$ と ^{14}C 年代の関係を図14に示す。ここで、(7)式の積分定数である $\ln[(1+D/L)/(1-D/L)]t=0$ は0.14と求められている。図14によると、約15,000年前付近で直線に屈曲点がみられ、両者に一つの直線関係は得られなかった。そこでこの屈曲点を境に2本の回帰直線を引き、それぞれについて勾配を求め、 k_{Asp} 算出を試みた。求められた k_{Asp} は堆積物表層～22cmまでの範囲(第一セグメント; 年代にして過去0～17,000年)で $0.84 \times 10^{-5} \text{yr}^{-1}$ 、22～25cmの範囲(第二セグメント; 年代にして過去17,000～24,000年)で $0.18 \times 10^{-5} \text{yr}^{-1}$ であった。

また、SC-9に関しても $\ln[(1+D/L)/(1-D/L)]t$ と ^{14}C 年代の関係を図15に示す。こちらは $\ln[(1+D/L)/(1-D/L)]t$ と ^{14}C 年代には高い相関($r=0.99$)で直線関係が得られており、その勾配より k_{Asp} は $0.86 \times 10^{-5} \text{yr}^{-1}$ と求められた。この値はSC-8の第一セグメントで得られた k_{Asp} に近い値であった。このことから、現世から過去約10,000年の年代範囲の全種の有孔虫化石試料では深層水温下で、 $0.8 \sim 0.9 \times 10^{-5} \text{yr}^{-1}$ に近い k_{Asp} をとることがわかった。

これまで、アスパラギン酸の k_{Asp} を求めた研究例は陸上の生物の骨や歯の化石を試料としたものが多く、 $n \times 10^{-4} \sim 10^{-5} \text{yr}^{-1}$ といった値が報告されているが(Bada and Protisch, 1973; Schroeder and Bada, 1973; Bada et al., 1974;

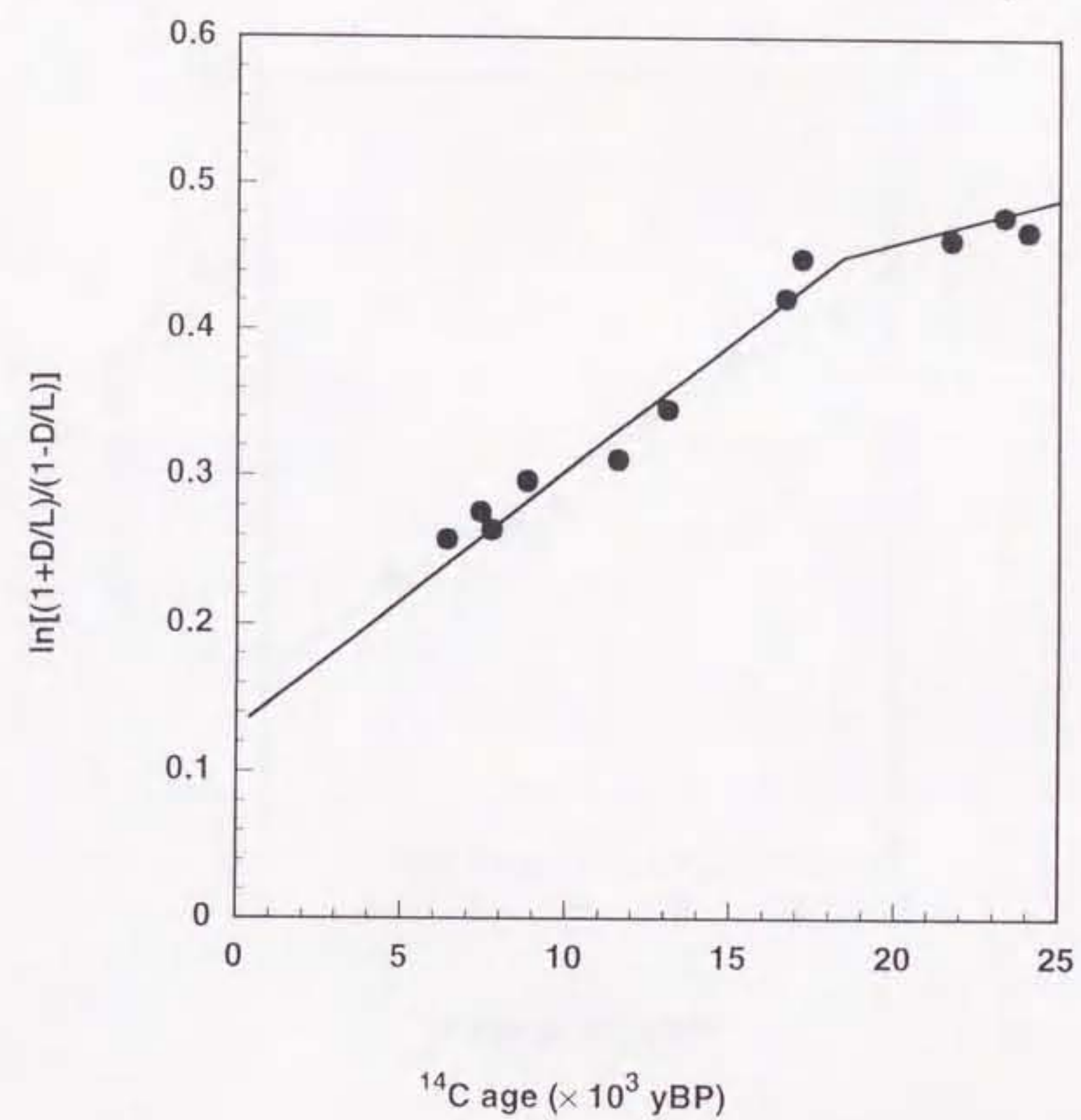


Fig. 14 Relationship between the $\ln[(1+D/L)/(1-D/L)]$ of aspartic acid and ^{14}C ages of foraminiferal tests from the core SC-8.

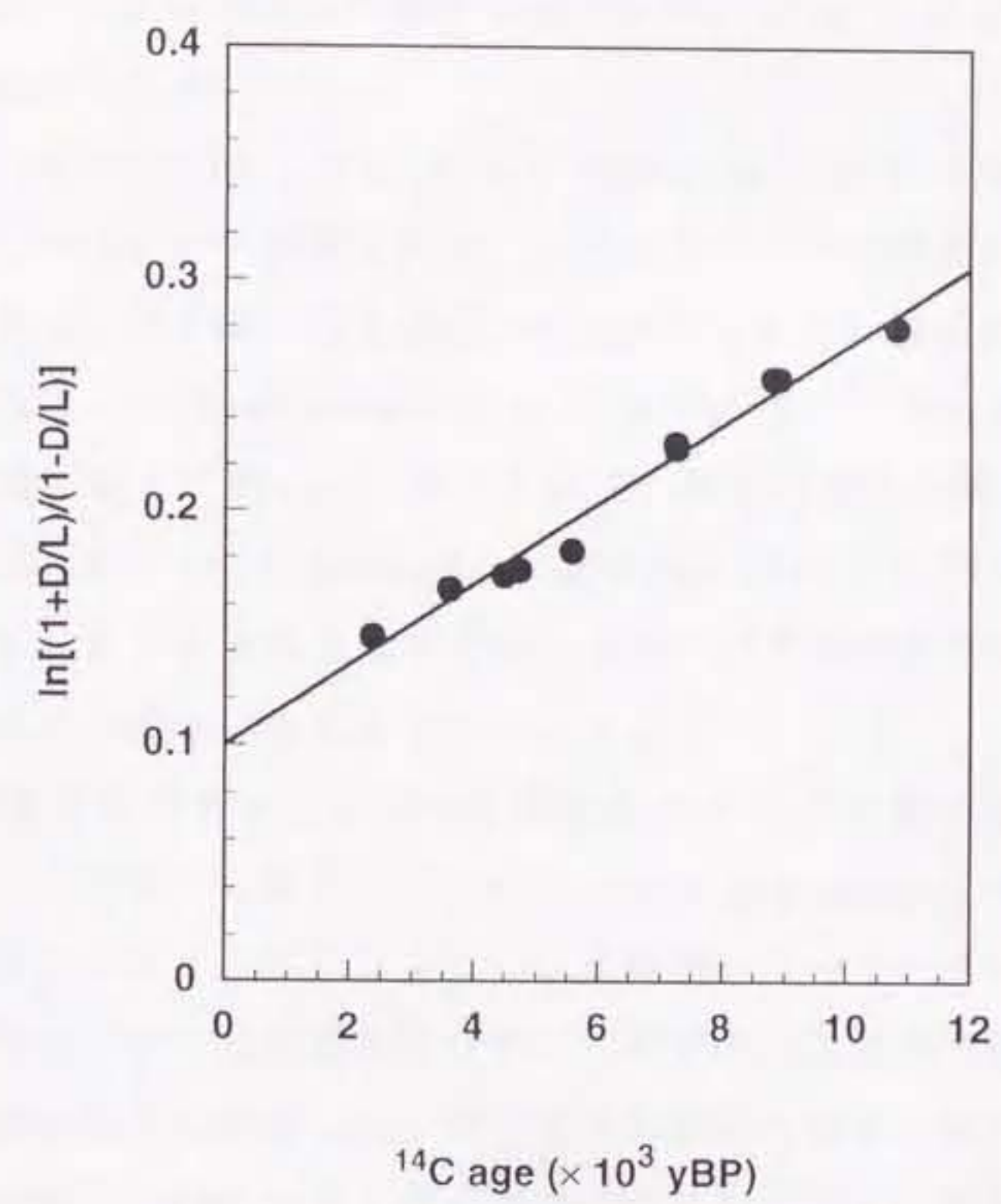


Fig. 15 Relationship between the $\ln[(1+D/L)/(1-D/L)]$ of aspartic acid and ^{14}C ages of foraminiferal tests from the core SC-9.

Bada and Helfman, 1975)、有孔虫の報告例はほとんどない。Kvenvolden et al., (1973)によって報告されている大西洋の海底堆積物中の全種類の有孔虫化石の研究によると、過去4,000~420,000年の試料で $0.78 \times 10^{-6} \text{yr}^{-1}$ 、180,000~2,000,000年の年代範囲で $0.20 \times 10^{-6} \text{yr}^{-1}$ と本試料の k_{Asp} よりかなり低い値が得られている。

さてSC-8の第二セグメントでは、第一セグメントに比べて低い k_{Asp} ($0.18 \times 10^{-6} \text{yr}^{-1}$)が得られた。このように、ある時期から k_{Asp} の値が低くなる現象は、これまでに過去100,000年より古い有孔虫の k_{Asp} 値について報告されている(Kvenvolden et al., 1973)。また、有孔虫に含まれるほかのアミノ酸に関して特にイソロイシンで、同様な現象が報告されている(Bada and Schroeder, 1972; Schroeder and Bada, 1976)。このような現象の原因を解く鍵は、第一に有孔虫殻中で生じるタンパク質の加水分解とアミノ酸のラセミ化反応の関係にあると予想された。

炭酸塩化石中で生じるラセミ化反応とタンパク質の加水分解は密接に関係していると考えられている。Kriaušakul and Mitterer (1980)は、炭酸塩化石中に含まれるイソロイシンについて実験を行った。それによると、イソロイシンのエピマー化反応速度はタンパク質の加水分解速度に影響され、加水分解速度の低下は同時にエピマー化反応速度の低下を促すことがわかった。またMüller (1984)は化石有孔虫殻中のイソロイシンのエピマー化反応のメカニズムに関して報告している。それによると、堆積物に埋没し、堆積していく有孔虫殻内で、最初は続成作用によるタンパク質の加水分解がかなり速く進み、それと同時にアミノ酸のラセミ化反応及びエピマー化反応も速く進んでいく。その後、地質時代を経て殻に残っているのは加水分解に対して安定なポリペプチドであり、この増加に伴ってタンパク質の加水分解速度が落ち、アミノ酸のラセミ化反応速度及びエピマー化反応速度も次第に低下して

いくであろうと考えた。しかしながら、この現象が顕著に現れる試料は、年代が $10^4 \sim 10^6$ 年より古いものについてである。よって本研究で用いた過去10,000～20,000年の試料に関しては、この現象の影響は無視できるものと考えられ、これ以外の要因が k_{Asp} 値の低下を生じさせたと判断される。そこで k_{Asp} 値の低下を生む原因として他に考えられる(1) 海底水温の低下の影響、(2) タンパク質やペプチドの続成作用による加水分解と、有孔虫殻の炭酸カルシウムの溶解を結びつけた効果について考察を行った。

III-3-3 氷期-間氷期における深層水温変動がラセミ化反応速度に及ぼす影響

一般に光が関与した化学反応及び、放射性核種の放射壊変以外の化学反応について、反応速度と温度の関係は以下のようなアーレニウスの式を用いて表すことができ、ラセミ化反応もこの関係に当てはめることができる(Bada and Schroeder, 1975; Schroeder and Bada, 1976; Kriaušakul and Mitterer, 1980)。

$$A = A_0 \exp(-E_a/RT) \quad (8)$$

この式をアスパラギン酸のラセミ化反応に当てはめ、変形すると以下のようにかける。

$$\ln k_{Asp} = \ln A_0 - E_a/RT \quad (9)$$

ここで A_0 は頻度因子で k_{Asp} と同じ単位を持つ(時間 $^{-1}$)。 E_a はアスパラギン酸の活性化エネルギーで、実験室でのラセミ化反応の昇温実験で得ることが

できる。ここではBada (1971)の値 31.0kcal/molを使用している。Rは気体定数であり、1.9852cal/mol·K、Tは絶対温度(K)である。そこで、SC-9の k_{Asp} ($0.86 \times 10^{-5} \text{yr}^{-1}$)と現場の水温(2,000mで2°C)を用い、(9)式からSC-8の第一、第二セグメントでそれぞれ得られた k_{Asp} 値が水温にして何度の反応速度定数に相当するのか、また第二セグメントの低い k_{Asp} 値 $0.18 \times 10^{-5} \text{yr}^{-1}$ が得られたことを深層水温変動の効果で説明する事ができるのかについて検討を行った。ここでSC-9の k_{Asp} 値をもとにした理由は、(1)SC-9は約1万1000年前の氷期、ヤンガードライアス期以降の間氷期の堆積物であるため大きな深層水温の変動を現在まで経験していない、(2)SC-9の $\ln[(1+D/L)/(1-D/L)]t$ と ^{14}C 年代が非常に優れた対応を示し、ほとんどばらつきのないデータセットからk値が得られ、その信頼度が高いと考えられるからである。

(9)式をアスパラギン酸のラセミ化反応について具体的に記述すると、以下の様に見える。

$$\ln k_{Asp} = 45.12 - 15616/T \quad (10)$$

この式にSC-8の第一、第二セグメントでそれぞれ得られた k_{Asp} 値を代入することにより、温度を求めたところ、第一セグメント(0~17,000年)で1.89°C、第二セグメント(17,000~24,000年)で-5.4°Cと得られた。第一セグメントで得られた深層水温は、SC-9はじめ、現在の全海洋の一般的な海底水温と矛盾しない値(Labeyrie et al., 1987; Shackleton et al., 1983)が算出された。しかしながら、第二セグメントに関して得られた水温は、海水の凝固点(-2°C)より低く、氷期の深層水温としてもありそうもない。また、Duplessy et al. (1988)によると、深層水の形成の場ではない太平洋では、最終氷期(過去約20,000年)の深層水温は現在と変わりなく、氷期-間氷期を

通して水温の変動はほとんどないと報告されている。よって第二セグメントで算出された -5.4°C は現場の水温としてはあり得なく、水温の低下が、第二セグメントの k_{Asp} 値が低く見積もられた原因ではないと判断される。

III-3-4 タンパク質の続成的加水分解と炭酸塩の溶解がラセミ化反応速度に及ぼす影響

化石有孔虫殻中において結合型アミノ酸の続成的加水分解によって、遊離のアミノ酸が増加することと、炭酸カルシウム（有孔虫殻）の溶解が結びつくことによる効果も SC-8 の第二セグメントの k_{Asp} 値が低く見積もられた理由として考えられる。

Smith and Evans (1980) によると、アミノ酸のラセミ化反応速度は、アミノ酸の構造上の違いや、タンパク質やペプチド内で隣に結合しているアミノ酸の種類によって異なることを報告している。これは各アミノ酸の構造の違いや、隣に結合しているアミノ酸の種類の違いが、アミノ酸のラセミ化反応の進行の律速段階を規定しているカルボアニオン（ラセミ化反応の中間生成イオン）の安定性に大きく影響を及ぼすためと考えられる。また、アミノ酸が遊離の状態にあるか、或いは結合して存在するか、また結合しているとしたら末端に存在するのか、内部に存在するのかによってもラセミ化反応の速度が異なる。これまでの研究結果から、最もラセミ化反応の速度が大きいのは、タンパク質やペプチドの末端に結合しているアミノ酸で、ついで内部に結合するアミノ酸、遊離アミノ酸の順になる (Wehmiller and Hare, 1971; Schroeder and Bada, 1976; Kriaušakul and Mitterer, 1978; 1980)。アスパラギン酸の場合は、カルボキシル基が末端の結合で使われている場合、つまりアミノ基が遊離の状態で末端に存在している時が、最もラセミ化反応の速度が速い。ところが、実際の化石試料中に存在するアミノ酸の異性体比でみる

と、最もラセミ化反応の速度が小さいはずの遊離アミノ酸の異性体比が最も高い報告が多い (Wehmiller et al., 1995)。例えばSchroeder and Bada (1976)は、鮮新世の堆積物上部に含まれるイソロイシンについて述べているが、堆積物内のアミノ酸の約8割が遊離しており、残りのタンパク質やペプチド内のアミノ酸よりも遊離のイソロイシンの方が、異性体比が高いことを見いだしている。

以上のことをまとめると、有孔虫が堆積物中に埋没し、数千年～数万年の年代範囲で急速に殻内で不安定なペプチドが続成作用により加水分解を受け、結合型アミノ酸でも末端に位置するアミノ酸の存在割合が高くなる。末端アミノ酸はラセミ化反応速度が大きいと次々とラセミ化反応を生じ、さらに加水分解を受けて、遊離アミノ酸へと移行していく。遊離アミノ酸はそれ自体がラセミ化反応を起こしていくものと、ラセミ化反応速度が大きい末端アミノ酸起源のもので、全体として高い異性体比を示すことになる。Müller (1984)も大西洋の堆積物中の有孔虫殻中のイソロイシンのエピマー化反応に関する研究で同様な結論を述べている。

申請者は、本研究で得られたSC-8の第二セグメントの低い k_{Asp} 値をもたらした原因として、これまでに述べてきた「高い異性体比を持つ遊離アミノ酸」に加えて、有孔虫殻の溶解が関与していると考えた。つまり、有孔虫殻中に存在するこの「高い異性体比を持つ遊離アミノ酸」が有孔虫の炭酸塩殻の溶解で殻の外に滲出したのではないかと考えた。このような有孔虫の炭酸塩殻の溶解が実際に起きているかどうかを確かめるために、有孔虫の種類組成を殻の溶解強度の視点で調べてみることにした。

表2に、SC-8の第一及び第二セグメントに含まれる有孔虫を200個体(完全な形で残っているもののみで破片は含まない)ランダムに取り出し、各セグメントにおける有孔虫の種類組成を示した。これによると両者で有孔虫の

Table 2. Relative existence of planktonic foraminifera in SC-8

	Species	First segment Sample No. 1	Second segment Sample No. 22
*"Shallow water" species	<i>Globigerinoides ruber</i>	11	14
	<i>Globigerinoides sacculifer</i>	48	11
	<i>Globigerinoides conglobatus</i>	9	4
*"Intermediate water" species	<i>Pulleniatina obliquiloculata</i>	56	55
	<i>Globoquadrina dutertrei</i>	20	42
	<i>Orbulina universa</i>	-	1
	<i>Globigerinella aequilateralis</i>	32	9
	<i>Globigerinita glutinata</i>	-	1
*"Deep water" species	<i>Globorotalia menardii</i>	13	30
	<i>Globorotalia tumida</i>	3	15
	<i>Sphaeroidinella dehiscens</i>	3	1
	<i>Globorotalia hirsuta</i>	2	2
	<i>Globorotalia crassaformis</i>	1	9
	<i>Globoquadrina conglomerata</i>	1	2
	<i>Globoquadrina hexagona</i>	-	-
	<i>Globigerina digitata</i>	-	-
	<i>Benthic foraminifera</i>	1	4
	Total specimens	200	200

* These groupings of foraminiferal species are based on Bè (1977).

種類組成が異なることがわかる。有孔虫には殻の強度が溶解に対して強い種と弱い種が存在し、spinose種と呼ばれる、殻の表面に突起を持つ種は溶解に対して比較的弱く、non-spinose種の様に突起を持たない、殻の表面がなめらかな種は溶解に対して比較的強い(Bé, 1977)。第一セグメントには、前者に属する *Globigerinoides sacculifer* や *Globigerinoides ruber* の存在割合が、第二セグメントに比べて大きく、一方第二セグメントには、後者に属する *Globoquadrina dutertrei* や *Globorotalia menardii*、*Globorotalia tumida* の存在割合が高いことがわかる。さらに有孔虫種を殻の溶解に対する強度によって分類してその量を比較した結果(図6)、やはりSC-8の第二セグメントには、溶解に対して強い種の割合が圧倒的に多かった。また実際、有孔虫試料を顕微鏡で観察した際、第二セグメントでは殻の完全体よりも破片の存在が非常に目立った。これらのことは、第一セグメントと第二セグメントの有孔虫の溶解の受け方が異なることを示すものと考えられ、地質時代を通じて第二セグメントの堆積物の方がより溶解を受けているものと思われる。

有孔虫殻の溶解とアミノ酸の滲出の機構を模式的に表すと図16のようになる。有孔虫殻が強い溶解を受け、殻は次第に破片となったり多孔質化していき、その過程でアミノ酸が次第に滲出していくと考えられる。しかも滲出していくアミノ酸は構造が小さい方が有利であるため、タンパク質やペプチドよりも遊離アミノ酸において顕著であったのではないかと考えられる。本研究では、完全な形の有孔虫化石に破片も含めて有孔虫を全種類で分析しているため、SC-8の第二セグメントでは破片の占める割合が非常に大きい試料となっていた。従って、溶解の影響を受けた結果、異性体比の大きい遊離アミノ酸が殻の外へ滲出し、有孔虫殻中に存在するアミノ酸の異性体比が見かけ上低く見積もられ、それによって算出された k_{Asp} 値が低くなったと判断される。しかしながら、現段階では有孔虫の殻が溶解を受けている証拠

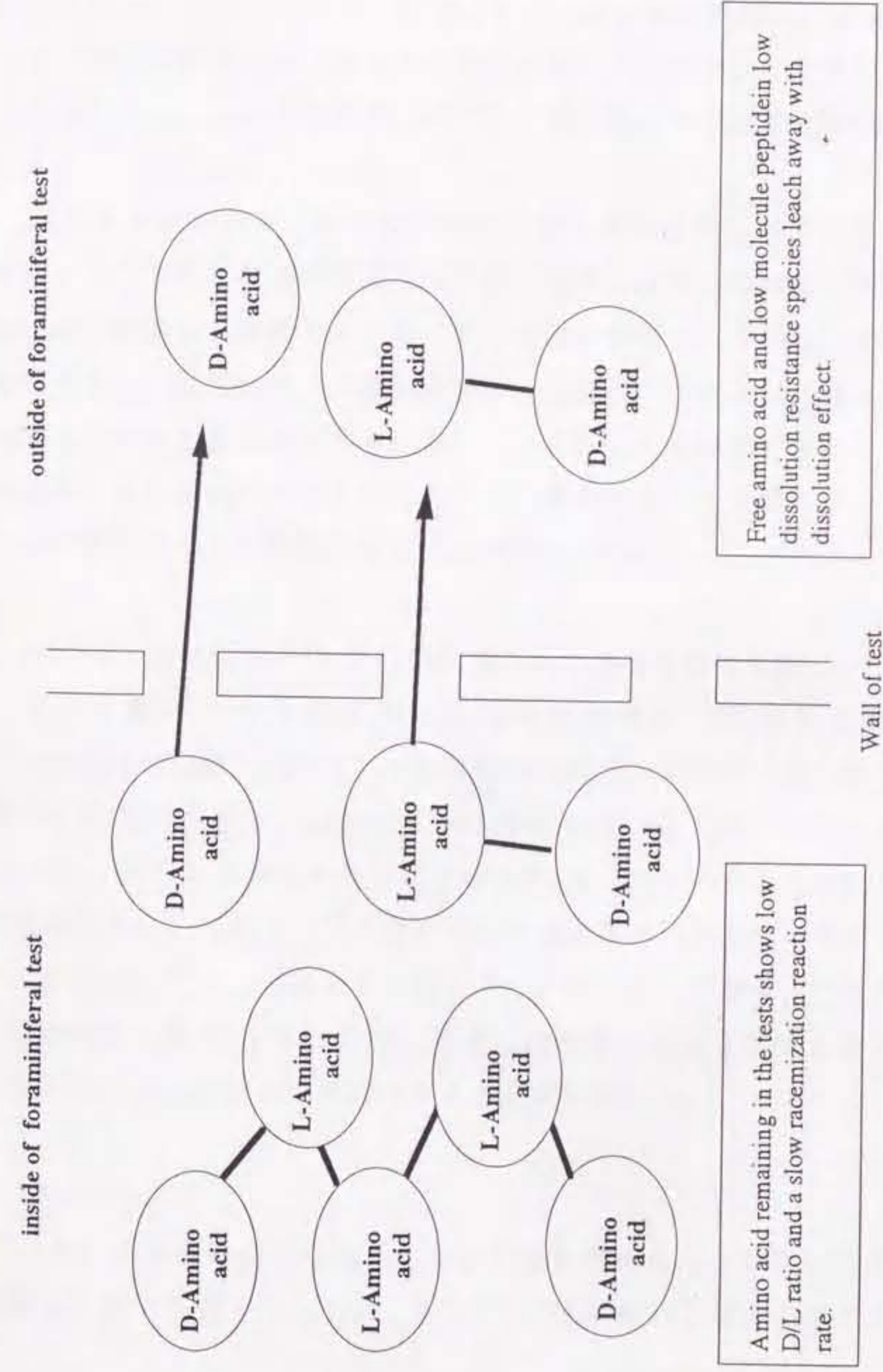


Fig. 16 Cartoon diagram of leaching of free amino acid and low molecule peptides.

を突き止めただけにすぎず、実際にアミノ酸の滲出が起きているかどうかはアミノ酸の分析を行って確かめる必要がある。この点については次章で確認することとし、ここでは殻からのアミノ酸の滲出の可能性が示唆されたと述べるにとどめておく。

以上をまとめると、有孔虫は種類により殻の溶解に対する強度に違いがある。このため、化石が地質時代を経て徐々に溶解を受けると溶解に対して弱い種の殻から、遊離アミノ酸（すでに高い異性体比を持つ）が滲出する可能性がある。実際にアミノ酸の滲出が生じると、有孔虫殻に残っているアミノ酸の異性体比を変化させる。従って、有孔虫を全種類で分析した場合、殻が溶解を強く受けたかどうかによって、見かけ上アミノ酸のラセミ化反応速度に影響を与える可能性のあることがわかった。

III-3-5 異性体比と ^{14}C 年代に記録された堆積環境の変動

アミノ酸のラセミ化反応は堆積層序を質的に評価する役割も持つ（Goodfriend私信, 1995）。堆積物SC-8のアスパラギン酸の異性体比の鉛直分布は ^{14}C のそれとはほぼ同じように変化している（図9と図12）。特にSC-9については ^{14}C 年代でみられている約14～18cmの大きな年代差の出現で代表されるいくつかの年代変動リズムを異性体比の鉛直プロファイルでもきれいに再現していた（図10と図13）。以上のことから、アスパラギン酸の異性体比自身が ^{14}C 年代同様、簡便に堆積層序の質をはかる道具として、古海洋学的研究に役立つ可能性がある判断される。

III-4 まとめ

（1）本堆積物試料に含まれていた化石有孔虫は、おもに熱帯及び、亜熱帯に生息する種であったが、SC-8の柱状試料の上部と下部とでも有孔虫

の相対的な存在割合が少しずつ異なっていた。柱状試料SC-8及びSC-9に含まれる有孔虫の種類組成を殻の溶解に対する強度で分類すると、SC-9では堆積物の上部から下部にかけて種類組成に変動はみられなかった。他方、SC-8では堆積物の上部と下部で明らかな種類組成の変動がみられ、下部では溶解に対して比較的弱い種類の存在割合が、溶解に対して強い種類に比べ小さくなっていた。このことからSC-8の下部堆積物は明らかに溶解を受けたと考えられる。

(2) 有孔虫殻中に含まれるアミノ酸の含有量は200~400mg/gであり、従来の報告値とはほぼ同じ範囲であった。アミノ酸の組成は酸性アミノ酸であるアスパラギン酸、グルタミン酸が最も多く全体の30%までを占めていた。分析前に有孔虫殻の表面を塩酸処理したものと、未処理のものとで比較をした結果、有孔虫殻の表面にはかなりの汚染有機物が吸着しており、そのうちアミノ酸の量は有孔虫殻に含まれるアミノ酸の約10~40%にも達していることが明らかとなった。アミノ酸組成も塩酸処理と未処理とではかなり異なり、未処理試料にはセリンやグリシンが多く含まれていた。しかしながら、アスパラギン酸の異性体比に関しては、塩酸処理と未処理とで個々の値の違いはあるものの、勾配には差はみられず、汚染有機物の存在はアミノ酸のラセミ化反応速度には影響を与えないことが明らかとなった。

(3) SC-8に関して、アスパラギン酸の $\ln[(1+D/L)/(1-D/L)]t$ と ^{14}C 年代の関係から、 ^{14}C 年代にして約17,000年前で屈曲点をもつ2本の回帰直線が得られ、各回帰直線からラセミ化反応速度定数(k_{Asp})はそれぞれ、 $0.84 \times 10^{-5} \text{yr}^{-1}$ と $0.18 \times 10^{-5} \text{yr}^{-1}$ と見積もられた。このように途中から k_{Asp} 値が低くなった原因の一つとして、有孔虫の殻の溶解とアミノ酸の滲出が関与していることが考えられた。柱状試料SC-8の上部と下部とで有孔虫の種類組成が異なること、試料中に殻の破片が非常に多く含まれていたことから、下部は上部

に比較して強く溶解の影響をうけていることが示唆された。このため、高い異性体比を持ち構造の小さい遊離アミノ酸の殻からの滲出が生じたために、見かけ上のラセミ化反応速度に変化を与えたものと判断される。

(4) SC-9に関して、アスパラギン酸の $\ln[(1+D/L)/(1-D/L)]t$ と ^{14}C 年代の関係は非常によい直線性を示し(相関係数 $r=0.99$)、 k_{Asp} 値は $0.86 \times 10^{-5} \text{ yr}^{-1}$ と算出された。この k_{Asp} 値を用いることにより、深海底水温下で、少なくとも過去1万年までの堆積物の年代測定が可能である。従って、地質時代を経て、強い溶解を受けていない海底堆積物であれば(有孔虫殻の破片が少ない)、全種類の有孔虫試料を用いて、アスパラギン酸年代を算出できることがわかった。

(5) SC-8およびSC-9ともにアスパラギン酸の異性体比の鉛直分布は ^{14}C 年代のそれとはほぼ同じ形で変動していた。このことは、異性体比の鉛直分布それ自身が、堆積層序の質を読む格好の道具となり得ることを示唆するものと思われる。

IV *Pulleniatina obliquiloculata*を用いたアスパラギン酸のラセミ化反応による過去20,000年までの海底堆積物の年代測定

IV-1 はじめに

第III章では、過去20,000年の炭酸塩堆積物より取り出した浮遊性有孔虫を全種類で分析した際、溶解に対して弱い種では、正確なラセミ化反応速度定数の決定が難しい場合があることを述べてきた。従って、より精度良くラセミ化反応速度定数の決定を行うために、全種類の有孔虫を使うのではなく、単一種の浮遊性有孔虫を用いることが有効と考えられる。

浮遊性有孔虫には、表層から50mくらいまでの比較的浅い水深に生息する種（溶解に対して比較的弱い殻を持つものが多い）、50m～100mほどの中層に生息する種、及び100m以深の比較的深い環境に生息する種（溶解に対して比較的強い殻を持つものが多い）が存在する(Bé, 1977)。浮遊性有孔虫の中でも溶解に対して比較的強い種類を選び出すことが重要である。本研究で用いた柱状試料SC-8及びSC-9で、多く存在が認められた、溶解に対して比較的強い殻を持つ浮遊性有孔虫には、*Pulleniatina obliquiloculata*、*Globigerinella aequilateralis*、*Globoquadrina dutertrei*、*Globorotalia menardii*、*Globigerinoides conglobatus*等がある。本実験では、この中で優占種の一つであった*Pulleniatina obliquiloculata*に注目し、それらを顕微鏡下で選び出し、過去約20,000年にわたる堆積物の単一種の浮遊性有孔虫殻に含まれる、アスパラギン酸のラセミ化反応速度定数の決定を行った。

さらにラセミ化反応年代測定法の精度を高める目的で、放物線モデル(D/L値と年代の平方根との関係)にあてはめることも試みた。放物線モデルは最近Mitterer and Kriaušakul (1989)により提唱された方法で、この方法により彼らは、堆積物の貝化石中に含まれるイソロイシンのエピマー化反応

年代測定法の精度を高めることに成功している。従って、本実験において *Pulleniatina obliquiloculata* (以下 *P. obliquiloculata* と表す。) のアミノ酸の異性体比と年代の関係を、一次反応速度則のみならず、放物線モデルにも当てはめ、どちらがより精度よく両者の関係を表わすことができるか検討を行った。

IV-2 結果

IV-2-1 *P. obliquiloculata* と全種有孔虫に含まれるアミノ酸含有量の比較
表3に *P. obliquiloculata* 及び、全種有孔虫に含まれるアミノ酸含有量の比較を示した。これによると、*P. obliquiloculata* に含まれるアミノ酸の量は、295~629ng AA/mg の範囲で柱状試料の表層から下部まで変動していた。一方、全種有孔虫に含まれるアミノ酸含有量は241~328ng AA/mg の範囲で変動していた。全体を通して、*P. obliquiloculata* に含まれるアミノ酸含有量が、全種有孔虫に含まれるアミノ酸の量に比べ、高い値を示した。

IV-2-2 *P. obliquiloculata* に含まれるアスパラギン酸の異性体比の変動

第III章では、SC-8で、全種類の有孔虫のアスパラギン酸の $\ln[(1+D/L)/(1-D/L)]t$ と ^{14}C 年代の関係をみたところ、2つの回帰直線が得られ、2つの k_{Asp} 値が得られる結果となった。そこで、単一種の有孔虫を用いて k_{Asp} 値を求めるために、SC-8について *P. obliquiloculata* のアスパラギン酸の異性体比の鉛直分布を示した。又全有孔虫試料のアスパラギン酸の異性体比の鉛直プロファイルとどう違うのか比較を行った(図17)。

SC-8の *P. obliquiloculata* のアスパラギン酸の異性体比は、表層から最深部まで0.148~0.248の値をとり、全有孔虫試料の結果同様深さとともに異性体比の増加がみられた。また、堆積物試料の上部から下部にかけて一貫し

Table 3 Comparison of amino acid concentration between the bulk foraminiferal species and *P. obliquiloculata*.

Sample No.	Bulk foraminifera (ng amino acid/ mg)	<i>P. obliquiloculata</i> (ng amino acid/ mg)
1	252.4	629.2
4	246.5	578.0
7	250.6	575.6
10	328.4	547.0
13	302.2	482.0
16	311.0	498.2
19	241.7	511.0
22	288.2	484.3
23	246.7	586.7
24	253.9	474.8
25	245.5	294.7

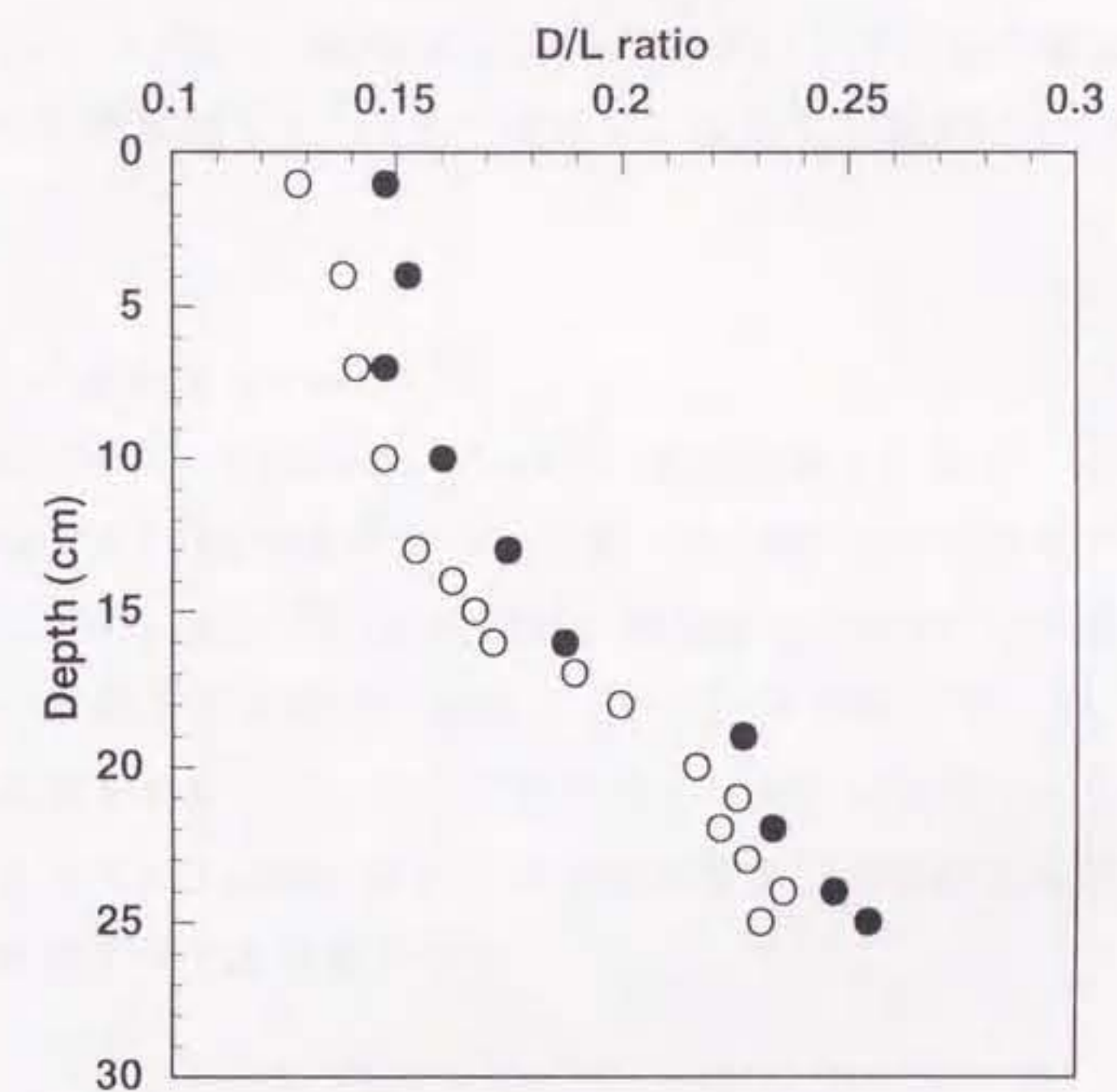


Fig. 17 Comparison of the aspartic acid D/L ratios in the bulk foraminifera (O) with *P. obliquiloculata* (●) in SC-8.

て、*P. obliquiloculata*の異性体比の方が、全種類の有孔虫の異性体比よりも高い値を示していた。その差は柱状試料の深度に関わらず、ほぼ一定の値であった。

一方、SC-9について*P. obliquiloculata*のアスパラギン酸の異性体比は、表層で0.075から最深部で0.147まで変化し、全有孔虫試料とはほぼ同じ様な鉛直分布を示した。

IV-2-3 *P. obliquiloculata*の ^{14}C 年代

SC-8及びSC-9の*P. obliquiloculata*の ^{14}C 年代を表4に示す。SC-8では、柱状試料の表層で $5,590 \pm 90$ 年前から、下部で $20,000 \pm 550$ 年前までの範囲で変動していた。一方、SC-9では、柱状試料の表層で $3,400 \pm 110$ 年前から、下部で $9,900 \pm 560$ 年前までの範囲で変動していた。本実験では、SC-8とSC-9とで同じ有孔虫種を分析しているので最終的には両柱状試料をまとめて扱うこととした。よって、3,400年前から20,000年前までのほぼ完新世から、最終氷期までの範囲を示す堆積物となる。

IV-2-4 *P. obliquiloculata*のアスパラギン酸の $\ln[(1+D/L)/(1-D/L)]t$ と ^{14}C 年代の関係

まず、SC-8とSC-9とで別々に*P. obliquiloculata*のアスパラギン酸の $\ln[(1+D/L)/(1-D/L)]t$ と ^{14}C 年代の関係をみることにした(図18と図19)。 $\ln[(1+D/L)/(1-D/L)]t$ と ^{14}C 年代の回帰直線から、両者の k_{Asp} 値はそれぞれ $0.71 \times 10^{-5} \text{yr}^{-1}$ と $0.74 \times 10^{-5} \text{yr}^{-1}$ と算出された。SC-8の全種類の有孔虫の分析結果で得られた屈曲点は、この場合みられず、柱状試料の上部から下部まで1つの回帰直線で表すことができた。また、SC-8とSC-9とではほぼ同じ k_{Asp} 値が算出された。

Table 4. The corrected ^{14}C age of *P. obliquiloculata*

SC-8		SC-9	
Depth (cm)	age (yBP)	Depth (cm)	age (yBP)
1	5590 \pm 90	1	-
4	9260 \pm 140	5	3400 \pm 310
7	4370 \pm 150	7	3070 \pm 130
10	8980 \pm 240	10	4480 \pm 270
13	9000 \pm 150	15	4510 \pm 190
16	12620 \pm 160	18	5890 \pm 150
19	14970 \pm 180	19	6390 \pm 150
22	18800 \pm 360	25	7840 \pm 830
24	20690 \pm 190	29	8620 \pm 160
25	20000 \pm 550	30	9900 \pm 560

References for age datasets used: Stuiver and Braziunas (1993) and Bard *et al.* (1993).

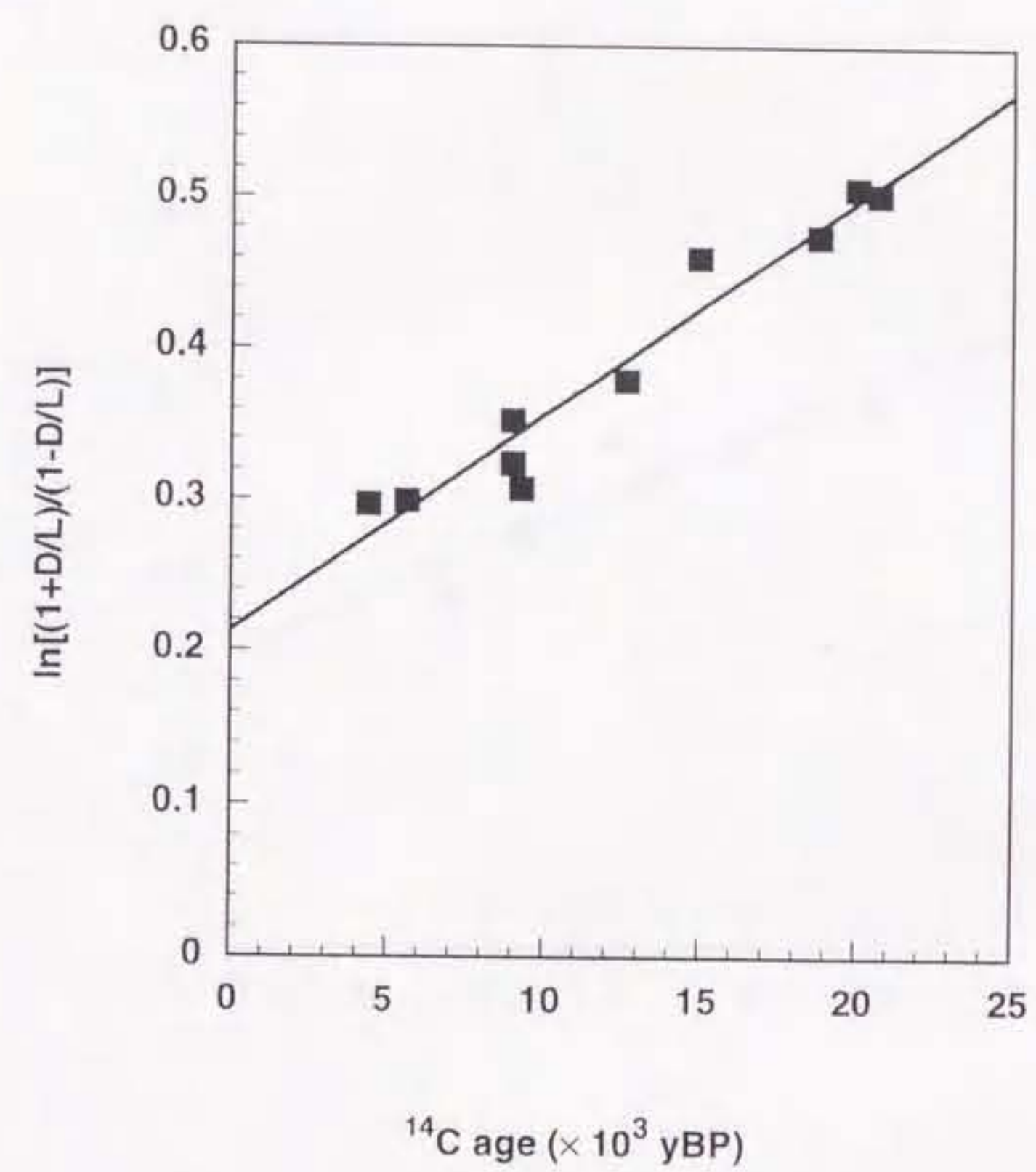


Fig. 18 Relationship of $\ln[(1+(D/L))/(1-D/L)]$ of the aspartic acid with radiocarbon ages of *P. obliquiloculata* from SC-8.

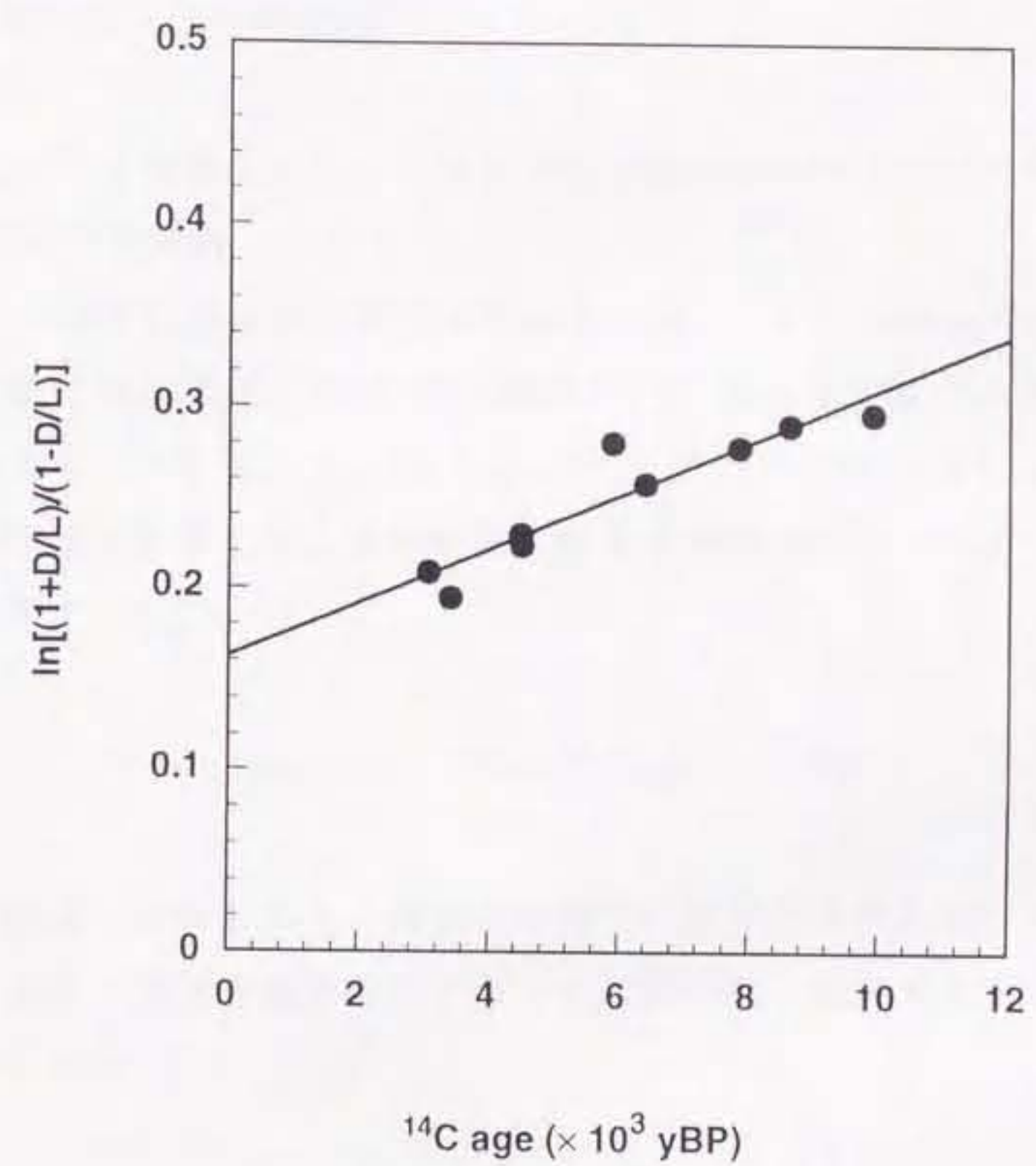


Fig. 19 Relationship of $\ln[(1+D/L)/(1-D/L)]$ of the aspartic acid with radiocarbon ages of *P. obliquiloculata* from SC-9.

さらに、SC-8とSC-9とをまとめて扱った場合のアスパラギン酸の $\ln[(1+D/L)/(1-D/L)]t$ と ^{14}C 年代の関係を図20に示す。この関係から k_{Asp} 値は、 $0.84 \times 10^{-5} \text{ yr}^{-1}$ と得られた。

IV-2-5 放物線モデルによる *P. obliquiloculata* のアスパラギン酸の異性体比と ^{14}C 年代の関係

アミノ酸年代測定法の精度を高めるために、*P. obliquiloculata* のアスパラギン酸の異性体比と ^{14}C 年代の関係を一次反応速度則ではなく、放物線モデルで表すことを試みた。図21に ^{14}C 年代の平方根に対するアスパラギン酸の異性体比を示した。その結果、両者の関係から以下のような関係式を得ることができた。

$$D/L (\text{Asp}) = 0.00164 \sqrt{^{14}\text{Cage}} + 0.0072 \quad (11)$$

相関係数は $r=0.96$ と高く、海底堆積物中に含まれる有孔虫のアミノ酸の異性体比と年代の関係を放物線モデルでも比較的高い相関で表すことができることがわかった。

IV-3 考察

IV-3-1 *P. obliquiloculata* と全種類の有孔虫とのアミノ酸含有量及びアスパラギン酸の異性体比の比較

第III章では、有孔虫を全種類で分析する際、溶解の影響を強く受けていると溶解に対して弱い種の有孔虫の場合、もし仮に殻からアミノ酸の滲出があったならば、殻に残存しているアミノ酸のラセミ化反応速度を変化させる危険性があることを示唆した。そこで全種類の有孔虫と *P. obliquiloculata* と

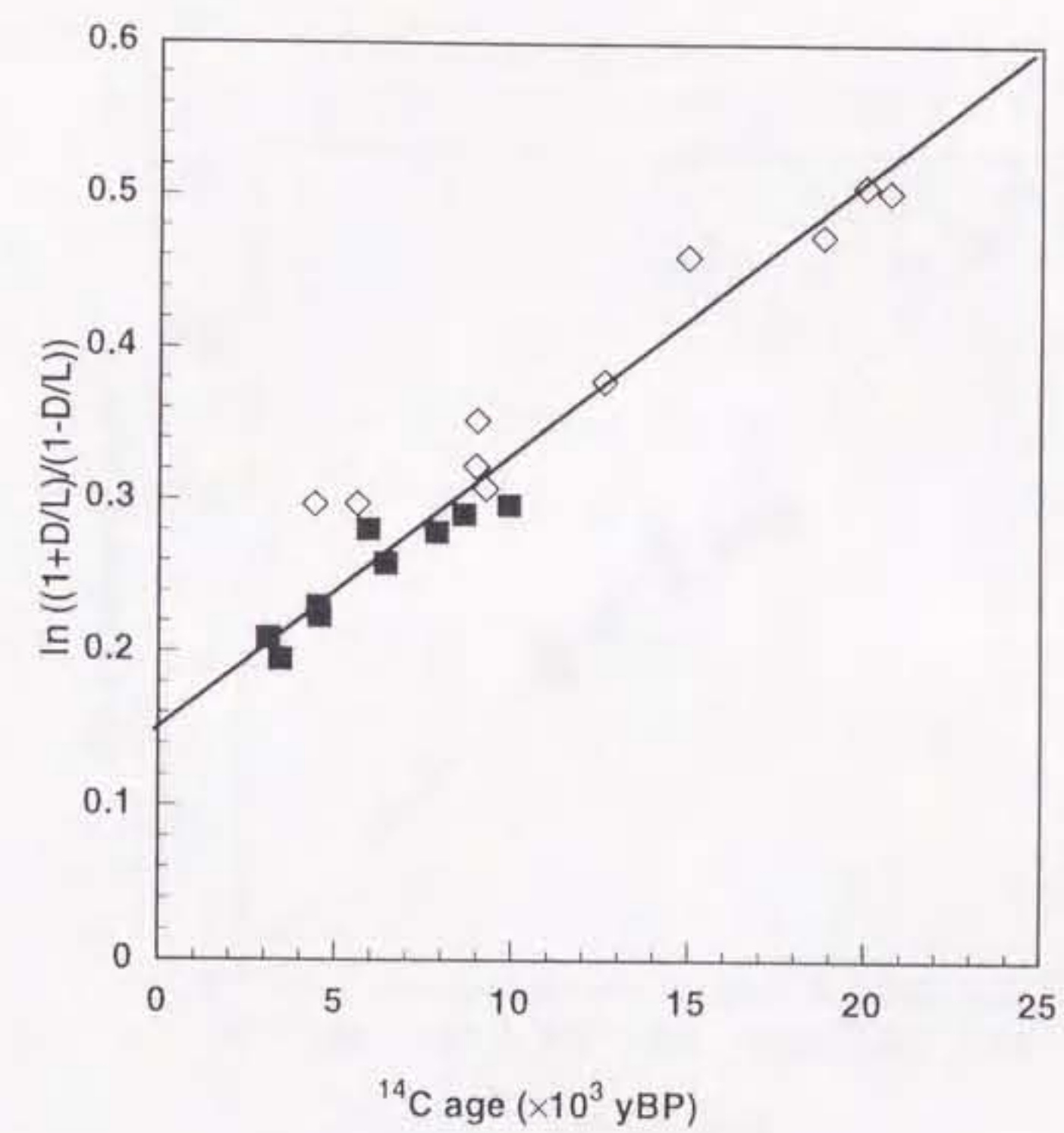


Fig. 20 Relationship of $\ln[(1+D/L)/(1-D/L)]$ of the aspartic acid with radiocarbon ages for combined data of *P. obliquiloculata* from cores SC-8 (\diamond) and 9 (\blacksquare).

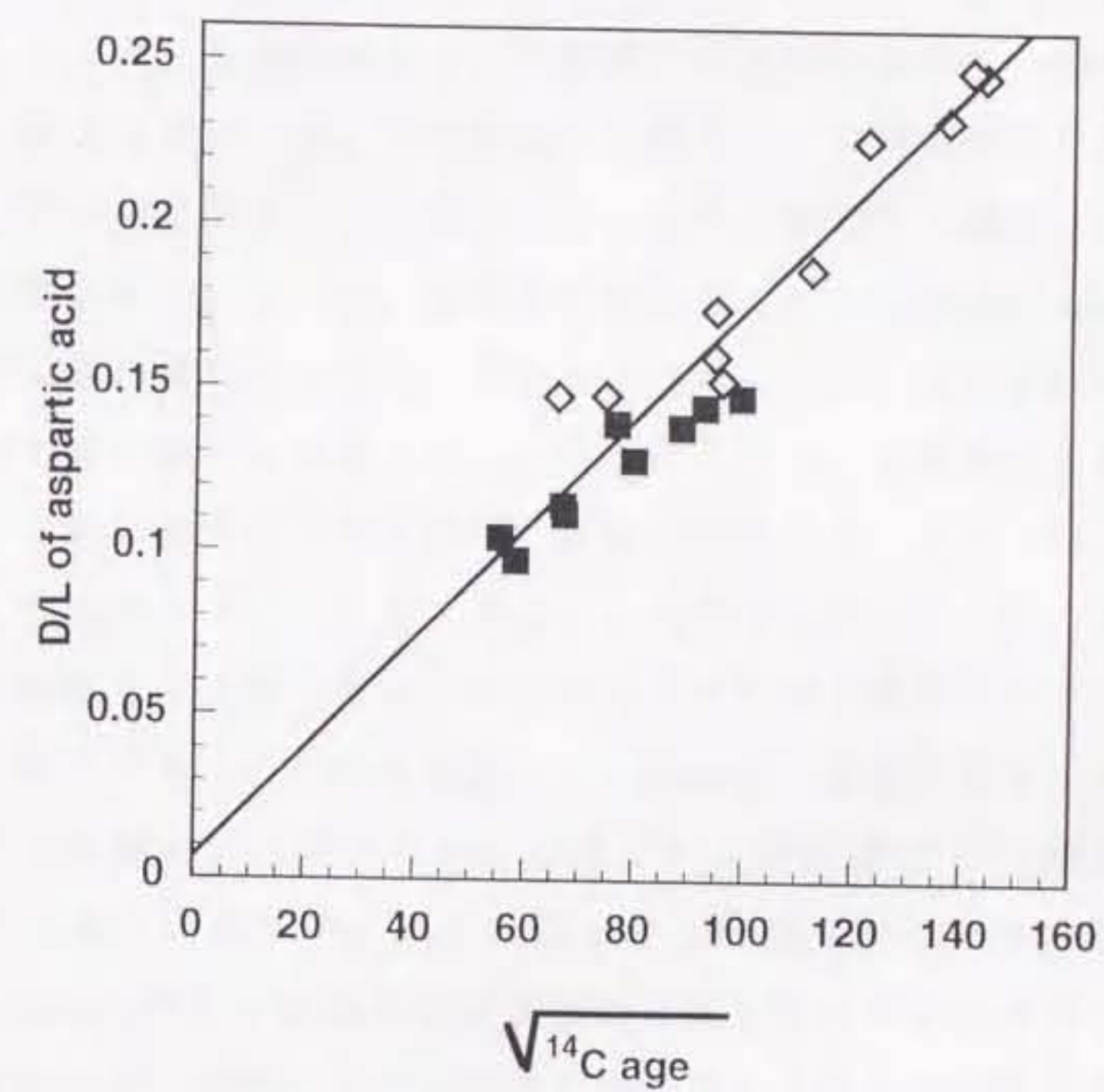


Fig. 21 Relationship of D/L ratios of the aspartic acid with parabolic kinetics transformed radiocarbon age (square root transformation of ^{14}C) for pooled data from SC-8 (\diamond) and 9 (\blacksquare).

でアミノ酸含有量やアスパラギン酸の異性体比にどのような違いが存在するのか確かめる必要がある。

実際に全種類の有孔虫と *P. obliquiloculata* とでアミノ酸含有量の比較を行ったところ、大きな違いがあり、全種類の有孔虫の方が *P. obliquiloculata* よりアミノ酸含有量が一貫して値が低く（表3）、全種類の有孔虫では種類によっては溶解の影響をかなり受け、アミノ酸が殻の外へ滲出している可能性が強く示唆された。さらに、全種類の有孔虫と *P. obliquiloculata* とでは、アスパラギン酸の異性体比の値も異なり、後者の方が、柱状試料の表層から深部にかけて高い値が示されていた。以上のことは、全種類の有孔虫のうち、溶解に対して弱い殻を持つ有孔虫が、次第に破壊され、アミノ酸の滲出が起こったことの証拠と考えられる。また、このときに出ていくアミノ酸は、構造が小さい遊離アミノ酸の方が、ポリペプチドの様な比較的大きい構造を持つものより有利であり、しかも遊離アミノ酸は高い異性体比をもつため、殻に残ったアミノ酸の異性体比は低くなるという第III章での予測がかなり確かな事実であることが示唆された。従って、溶解に対して強い殻を持つ *P. obliquiloculata* のアミノ酸含有量は全種類の有孔虫試料よりも多く、遊離アミノ酸の滲出がないため、アスパラギン酸の異性体比は全種類の有孔虫よりも高い値を示したものと判断される。よって、溶解の影響を除くために、*P. obliquiloculata* 単一種についてアミノ酸の異性体比の分析を行うことが精度の良い k_{Asp} 値を得るために重要であるといえる。

IV-3-2 *P. obliquiloculata* のアスパラギン酸の $\ln[(1+D/L)/(1-D/L)]t$ と ^{14}C 年代の関係

SC-8とSC-9とに関して、*P. obliquiloculata* のアスパラギン酸の $\ln[(1+D/L)/(1-D/L)]t$ と ^{14}C 年代の関係から求めた k_{Asp} 値は、それぞれ

$0.71 \times 10^{-5} \text{yr}^{-1}$ と $0.74 \times 10^{-5} \text{yr}^{-1}$ となり、SC-8についても全種類の有孔虫で得られたのとは違い、一つの k_{Asp} 値を得ることができた。また、SC-8とSC-9をまとめて k_{Asp} 値を求めた場合、 $0.84 \times 10^{-5} \text{yr}^{-1}$ と算出された。以上のことより、過去20,000年までの範囲では、*P. obliquiloculata*のアスパラギン酸の $\ln[(1+D/L)/(1-D/L)]t$ と ^{14}C 年代はほぼ直線関係にあり、 k_{Asp} 値は $0.8 \times 10^{-5} \text{yr}^{-1}$ に近い値をとることがわかった。また、溶解をかなり受けた堆積物でも、*P. obliquiloculata*のような溶解に対して比較的強い殻を持つ有孔虫を単一種で分析することにより、ラセミ化反応法は海底堆積物の年代測定法として、比較的精度よく使えることが明らかとなった。

IV-3-3 放物線モデルによる*P. obliquiloculata*のアスパラギン酸の異性体比と ^{14}C 年代の関係

本実験では、一次反応速度則と同様、海底堆積物中に含まれる有孔虫のアミノ酸の異性体比と絶対年代の関係を放物線モデルによって、比較的高い相関係数で表すことができることがわかった。Mitterer and Kriaušakul (1989)により提唱された、アミノ酸の異性体比と年代を放物線モデルで表す方法は、ラセミ化反応速度の比較的大きいアミノ酸であるアスパラギン酸、プロリン、メチオニン等を利用して、数百年オーダーの年代範囲を示す陸上の砂漠で産出される蝸牛等の化石の年代測定に適用される例が多い (Goodfriend, 1991; Goodfriend and Mayer, 1991; Goodfriend, 1992; Goodfriend et al., 1992)。なぜなら、これら陸上の試料は海底に比べ、激しい温度環境下におかれていることが特徴であること、また炭酸塩殻中のタンパク質を構成するアミノ酸の中にアスパラギンやグルタミンといったアスパラギン酸やグルタミン酸のアミドが存在し、これらのラセミ化反応速度がアスパラギン酸やグルタミン酸よりかなり大きく (実験ではファクター10:

Zhao and Bada, 1989)、これらの存在がアスパラギン酸やグルタミン酸のラセミ化反応速度定数に影響を与え、アミノ酸の異性体比と年代との関係が一次反応速度則には従わない例が多いためである。アミノ酸の異性体比と年代との関係が一次反応速度則に従うための重要な条件は、温度が一定の環境であることで、陸上では気温の日較差や年較差が化石中のアミノ酸のラセミ化反応速度のみならず、タンパク質の加水分解速度にも大きく影響する可能性がある。このため陸上の化石試料の有機物の続成作用のメカニズムは複雑になり、アミノ酸のラセミ化反応を年代測定に利用するためには、放物線モデルのような他の関係式を考える必要があるといえる。

一方、太平洋の深海底では、地質時代を通して、氷期-間氷期の変動に伴う深層水温の変化はほとんどなく(Broecker, 1982)、海底堆積物に含まれる有孔虫化石を用いた場合は、温度変化の影響を無視することができることは本研究の結果からも明らかである。このため、放物線モデルを適用してもアミノ酸の異性体比と年代の直線関係をさらに高める効果はそれほどなく、一次反応速度則を適用した場合と変わらない結果が得られたものと判断される。

放物線モデルはアミノ酸の異性体比と年代の直線関係を高めるために考案された数値処理法の一つであり、確かに一次反応速度則に従わない試料の年代測定法としての精度は向上したが、ラセミ化反応或いは、エピマー化反応の機構を説明することはできない。従って、本研究ではこれまで同様、アミノ酸の異性体比と年代の関係を一次反応速度則で表現していくものとする。

IV-3-4 アスパラギン酸の k 値と文献値との比較

*P. obliquiloculata*の k_{Asp} 値とこれまで得られている文献値との比較を行った(表5)。 k_{Asp} 値に関しては、有孔虫に関する値が非常に少なく、陸上の骨の化石の k_{Asp} 値に関する報告が多い。それによると、骨の化石の

Table 5. Comparison between the observed and calculated values of racemization rate constant (k) of aspartic acid in foraminiferal tests and fossil bones.

Location	Sample	k _{Asp} ($\times 10^{-5} \text{yr}^{-1}$)	¹⁴ C age ($\times 10^3 \text{yBP}$)	T* (°C)	Ref.
Del Mar, California	fossil bone	1.08	-	-	(1)
Sunnyvale, California	fossil bone	0.70	-	-	(1)
Lindenmeire Site, Colorado	fossil bone	0.86	10.8	9-10	(1)
Valley of Mexico, Mexico	fossil bone	3.30	10.1	16	(1)
Muleta cave, Majorca, Spain	fossil bone	1.72	8.6	19	(2)
Olduvai Gorge, Tanzania	fossil bone	1.48	17.6	18.3	(3)
Palagawra, Iraq	fossil bone	2.34	13.6	15-20	(4)
Murray Springs, Arizona	fossil bone	4.84	5.6	15-20	(4)
Caribbean Sea	foraminifera	0.078	4-420	4	(5)
Caribbean Sea	foraminifera	0.02	180-2000	4	(5)
Western equatorial Pacific Ocean <i>P. obliquiloculata</i>		0.84	20.0	2.0	this study

Reference (1) ; Bada and Helfman (1975), (2); Schroeder and Bada (1973), (3); Bada and Protsch (1973), (4); Bada et al., (1974), (5) ; Kvenvolden et al., (1973)

*The temperature of fossil bones represent present mean annual air temperature.

k_{Asp} 値は、9~20°Cの温度下で $0.70\sim 4.84\times 10^{-3}\text{yr}^{-1}$ の範囲であった。本実験で得られた*P. obliquiloculata*の k_{Asp} 値は、試料が骨の化石が得られた陸上よりも低い温度環境（深海底）にあったにもかかわらず、比較的大きな値であった。考えられる理由の一つは、有孔虫と骨の素材の違いである。有孔虫は緻密な構造を持つ炭酸カルシウムであるのに対し、骨は多孔質なリン酸カルシウムである。リン酸カルシウムは続成作用により容易に分解を受け、その分解にともない、アミノ酸の滲出が生じる危険性が非常に大きい。滲出するアミノ酸は、構造の小さい異性体比の高いものであることが予想される。これにより、骨の中に残ったアミノ酸の k 値は過小評価されているのではないと思われる。

一方、カリブ海の有孔虫の k 値については、得られた試料の年代が本実験の*P. obliquiloculata*のものよりかなり古いので、第V章で述べる過去330,000年の試料の k 値と比較することとした。

IV-4 まとめ

本実験では、深海底炭酸塩堆積物より、化石有孔虫の一種である*P. obliquiloculata*を単離し、その殻の中に含まれるアスパラギン酸の異性体比と ^{14}C 年代との関係を一次反応速度則及び放物線モデルで表現してきた。以下に得られた結果をまとめると、

(1) *P. obliquiloculata*と全種類有孔虫試料に含まれるアミノ酸含有量の比較を行ったところ、*P. obliquiloculata*に含まれるアミノ酸の量は、295~629ng AA/mgの範囲で変動し、全種類の有孔虫試料に含まれるアミノ酸含有量は241~328ng AA/mgの範囲で変動していた。全種類の有孔虫に含

まれるアミノ酸含有量は、*P. obliquiloculata*に含まれるアミノ酸の量に比べ、常に低い値を示していた。従って、全種類の有孔虫では溶解に対して弱い殻を持つ有孔虫の殻から、アミノ酸の滲出が生じた可能性があることが示唆された。このため、溶解の影響を受けずにアミノ酸のラセミ化反応を年代測定法として利用するために、*P. obliquiloculata*の様な溶解に対して強い殻を持つ、単一種の有孔虫による分析が重要であるといえる。

(2) 柱状試料SC-8及び9に含まれる、*P. obliquiloculata*のアスパラギン酸の $\ln[(1+D/L)/(1-D/L)]t$ と ^{14}C 年代の回帰直線から、 k_{Asp} 値はそれぞれ $0.71 \times 10^{-5} \text{yr}^{-1}$ と $0.74 \times 10^{-5} \text{yr}^{-1}$ と算出された。また、SC-8と9のデータをあわせ、一つの k_{Asp} 値を求めると、 $0.84 \times 10^{-5} \text{yr}^{-1}$ と算出され、SC-9で得られた全種類の有孔虫の k_{Asp} 値と矛盾しない値であった。従って、過去20,000年までの海底堆積物で得られる浮遊性有孔虫の k_{Asp} 値は $0.8 \sim 0.9 \times 10^{-5} \text{yr}^{-1}$ に近い値であることがわかった。

(3) *P. obliquiloculata*のアスパラギン酸の異性体比と ^{14}C 年代の関係を放物線モデルに当てはめたところ、直線関係の相関は一次反応速度則を当てはめた場合と変わらなかった。従って、温度環境がほぼ一定に保たれる深海底の試料の場合、放物線モデルの際だった効果はなく、アミノ酸の異性体比と年代の直線関係は一次反応速度則で十分表現できることがわかった。

V *P. obliquiloculata*を用いたアスパラギン酸のラセミ化反応による過去330,000年までの海底堆積物の年代測定

V-1 はじめに

第IV章では過去約20,000年までの炭酸塩海底堆積物の年代測定において、*P. obliquiloculata*を用いたアスパラギン酸のラセミ化反応による手法が有効であることを明らかにした。ここではさらにその年代を広げ、過去330,000年までの海底堆積物のアミノ酸のラセミ化反応年代測定法の確立を試みた。

過去330,000年の海底堆積物については、他に年代が測定可能で実用的な唯一の方法に ^{230}Th - ^{234}U 法がある。しかし、 ^{230}Th - ^{234}U 法では測定可能な年代が、過去約350,000年までと、過去330,000年では限界に近く、誤差が大きい可能性があること、また貝化石についての研究では、アミノ酸年代測定法の方が ^{230}Th - ^{234}U 法よりも精度が高いと報告されている(Goodfriend et al., 1992)ことなどから、アミノ酸のラセミ化反応法の確立にさらに期待がかかっている。

数十万年オーダーと年代が古くなってくると、ラセミ化反応速度の小さいアミノ酸に関しても、異性体比の変化を追うことができるようになる。そこで、グルタミン酸、イソロイシンのラセミ化反応速度定数も同時に見積もることとした。その際、対照年代として、約25,000年までは放射性炭素年代を用い、それより古い年代については*P. obliquiloculata*の殻の酸素同位体比変動曲線から見積もった年代を利用した。そして最終目標である、ラセミ化反応による年代測定法が過去 10^1 ~ 10^6 年の海底堆積物の年代決定に有効であるかどうかを確かめることを目的とした。

用いた海底堆積物は、671cmの柱状試料(2PC)である。

V-1-1 有孔虫の酸素同位体比曲線から見積もる年代

海底堆積物中の有孔虫殻の酸素同位体比曲線は、氷期-間氷期の氷床量の増減及び海水温の変化を反映している。この変動記録は気候変動が激しかった第四紀においては、地層の対比や堆積年代の推定に利用されている(Imbrie et al., 1984; Martinson et al., 1987)。

この方法は、堆積物に含まれる有孔虫殻の酸素同位体比の変動曲線を求めておいて、標準的な酸素同位体比変動曲線と特徴的なピークを対比させることにより、年代を決める方法である。このため、人により対比させるピークに違いが生じたり、仮に得られた試料の酸素同位体比の変動曲線のピークが不明瞭である場合には誤差が大きくなる危険が伴う方法である。

V-2 結果

V-2-1 柱状試料2PCに含まれる *P. obliquiloculata* アミノ酸の異性体比の鉛直分布

ガスクロマトグラフより検出されたアミノ酸の異性体比のうち、比較的濃度の高いアスパラギン酸、フェニルアラニン、アラニン、イソロイシン、グルタミン酸についてそれぞれ鉛直プロファイルをとった(図22)。各アミノ酸の異性体比は深さとともに増すことがわかる。また、ラセミ化反応速度はアスパラギン酸が最も大きく、ついでフェニルアラニン、アラニン、イソロイシン、グルタミン酸の順で小さくなっていた。各アミノ酸によって異性体比の鉛直変化におけるばらつきの幅が異なり、アスパラギン酸が最も小さく、フェニルアラニンが最も大きかった。

V-2-2 柱状試料2PCに含まれる *P. obliquiloculata* の酸素同位体比変動 *P. obliquiloculata* の酸素同位体比の鉛直分布を図23に示す。本研究で

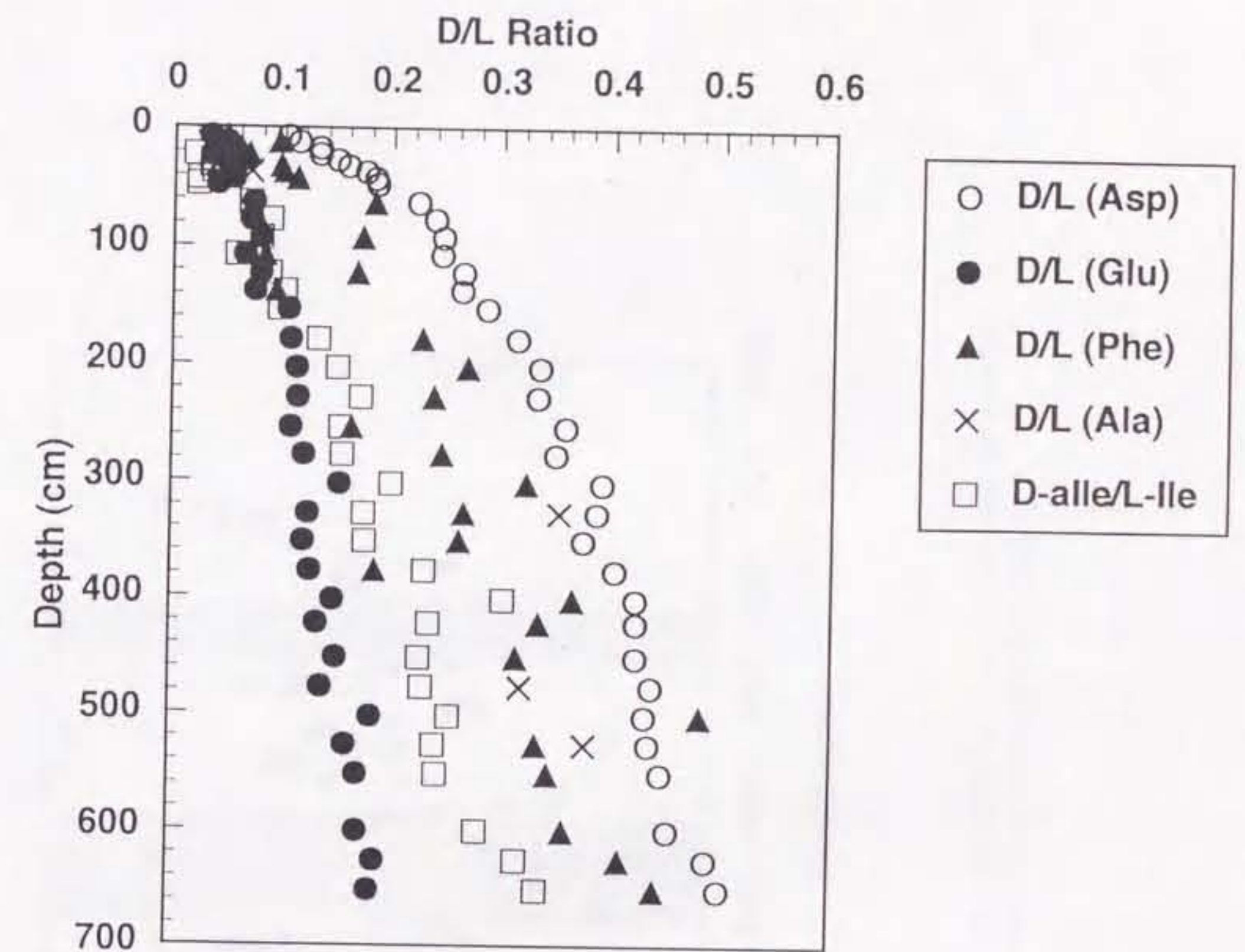


Fig. 22 Plots of the extent of D/L ratio of aspartic acid (○), glutamic acid (●), phenylalanine (▲), alanine (×), and D-allo/L-Ile (□) of *P. obliquiloculata* to the depth of 2PC core.

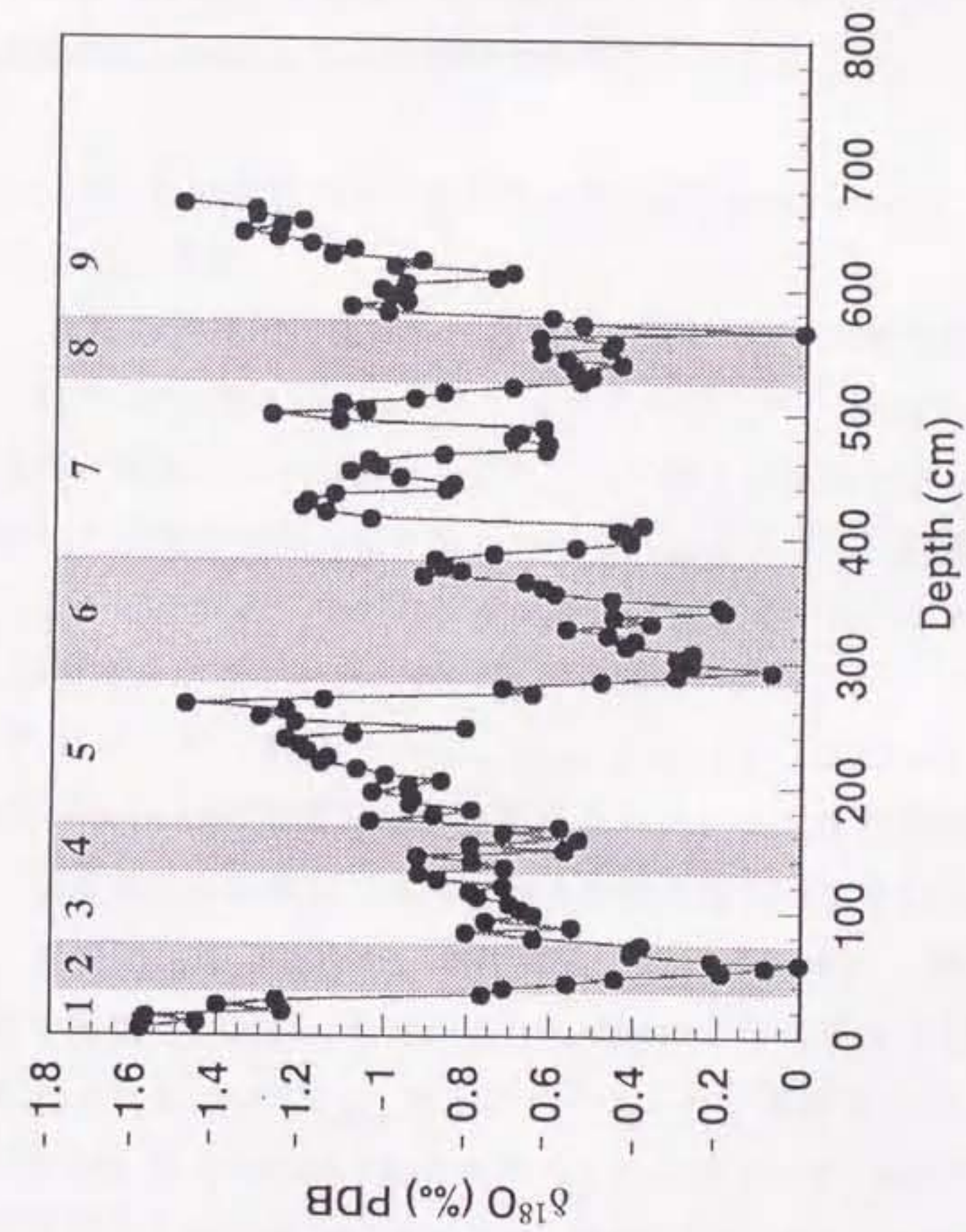


Fig. 23 A plot of $\delta^{18}\text{O}$ (PDB) of *P. obliquiloculata* against the depth of core 2PC. Shades indicate the glacial periods. The numbers are isotope stages.

は柱状試料2PCについて得られた酸素同位体比変動曲線を、Martinson et al. (1987)の標準的な酸素同位体比変動曲線と、それぞれ特徴的なピークを対比させて堆積物の年代を推定している。なお、年代推定に用いた特徴的なピークの間は堆積速度を一定と仮定して堆積速度を求めている。

以上の方法で求めた年代の結果から、柱状試料2PCは欠損のない連続的な良い柱状試料で、酸素の同位体ステージで1から9まで遡ることができ、過去約330,000年までの堆積物であることがわかった。

V-2-3 柱状試料2PCに含まれる *P. obliquiloculata* のアミノ酸の異性体比と¹⁴C年代の関係

一次反応速度則に従って、各アミノ酸についてk値を求めるために、各アミノ酸の $\ln[(1+D/L)/(1-D/L)]t$ と¹⁴C年代及び、*P. obliquiloculata*の酸素同位体比年代を併せて回帰直線を得た。その際、フェニルアラニン及びアラニンに関しては異性体比の鉛直分布のばらつきが大きく、回帰直線が精度よく得られなかったため、アスパラギン酸、イソロイシン、グルタミン酸についてのみk値を求めることとした。

アスパラギン酸について、 $\ln[(1+D/L)/(1-D/L)]t$ と¹⁴C年代及び、*P. obliquiloculata*の酸素同位体比年代を対比させて得た回帰直線を図2-4に示す（回帰係数はF検定により99%水準で有意とみなされた）。両者は非常に良い直線関係を示したが、年代にして約25,000年前、異性体比にして0.24の点で屈曲点が現れ、勾配が変化していた。この屈曲点で直線を二つに分けてそれぞれについて k_{Asp} 値を求めたところ、現在から25,000年前までの範囲で $0.94 \times 10^{-5} \text{ yr}^{-1}$ ($r=0.99$)と求められた。また、25,000年前から330,000年前の範囲で $0.99 \times 10^{-6} \text{ yr}^{-1}$ ($r=0.99$)と $0.94 \times 10^{-5} \text{ yr}^{-1}$ より一桁小さい値が得られた。

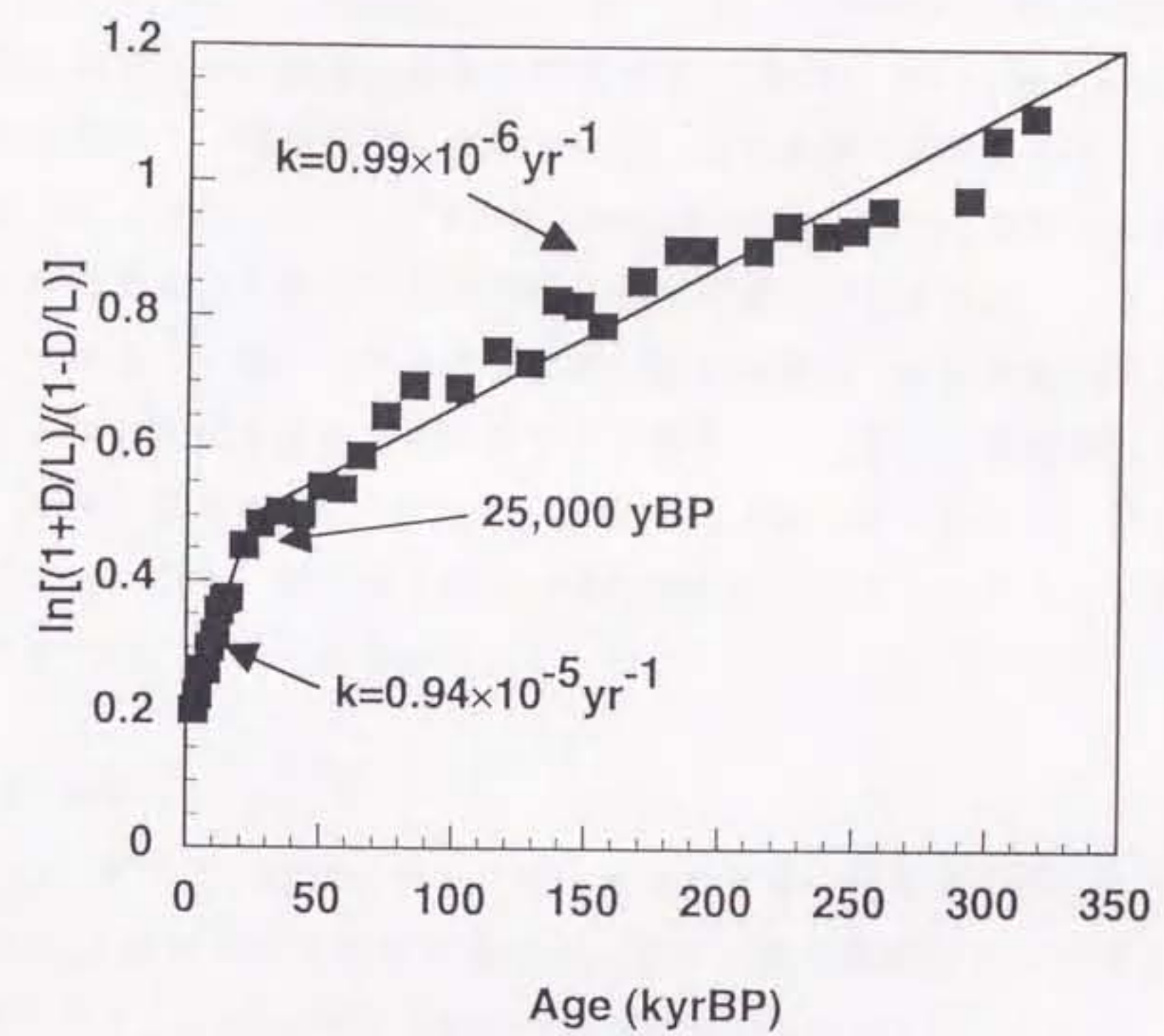


Fig. 24 Relationship between $\ln[(1+D/L)/(1-D/L)]$ of aspartic acid and absolute age determined by ^{14}C and $\delta^{18}\text{O}$ curve of *P. obliquiloculata*.

他方、グルタミン酸及びイソロイシンについてもk値を求めた。グルタミン酸の $\ln[(1+D/L)/(1-D/L)]t$ と ^{14}C 年代及び、*P. obliquiloculata*の酸素同位体比年代を対比させた結果、両者の関係から、k値は $0.45 \times 10^{-6} \text{yr}^{-1}$ ($r=0.95$)と得られた(図25: 回帰係数はF検定により99%水準で有意とみなされた)。また、イソロイシンについてk値は $0.88 \times 10^{-6} \text{yr}^{-1}$ ($r=0.95$)と見積もられた(図26: 回帰係数はF検定により99%水準で有意とみなされた)。アスパラギン酸、グルタミン酸、イソロイシンのk値の精度を、それを算出するに至った各データの回帰直線からの分散でみた場合、その度合いを百分率で表すと、アスパラギン酸で4.5%、グルタミン酸で12.3%、イソロイシンで15.8%となり、アスパラギン酸が最もばらつきの少ないデータセットからk値が見積もられていることがわかる。

V-3 考察

V-3-1 各アミノ酸のラセミ化反応及びエピマー化反応速度について

各アミノ酸のラセミ化反応速度は、アミノ酸の種類によって異なった結果が得られた。このような現象が生じる機構でまず考えられるのは、各アミノ酸が持つ、R基の違いがあげられる。

アミノ酸のラセミ化反応及びエピマー化反応は、L体からラセミ化反応の中間生成イオンである、カルボアニオン(これが安定であるほど、ラセミ化反応及びエピマー化反応が生じ易い。)を生成する過程が律速段階である。Bada and Schroeder (1975)、Schroeder and Bada (1976)、Bada (1985)は、R基の「電子引き込み容量」(electron-withdrawing-capacity)が個々のアミノ酸によって異なるため、カルボアニオンの安定度が異なり、ラセミ化反応及びエピマー化反応速度をコントロールしていると報告している。一方、Smith et al. (1978)は、ラセミ化反応速度及びエピマー化反応速度は、アミ

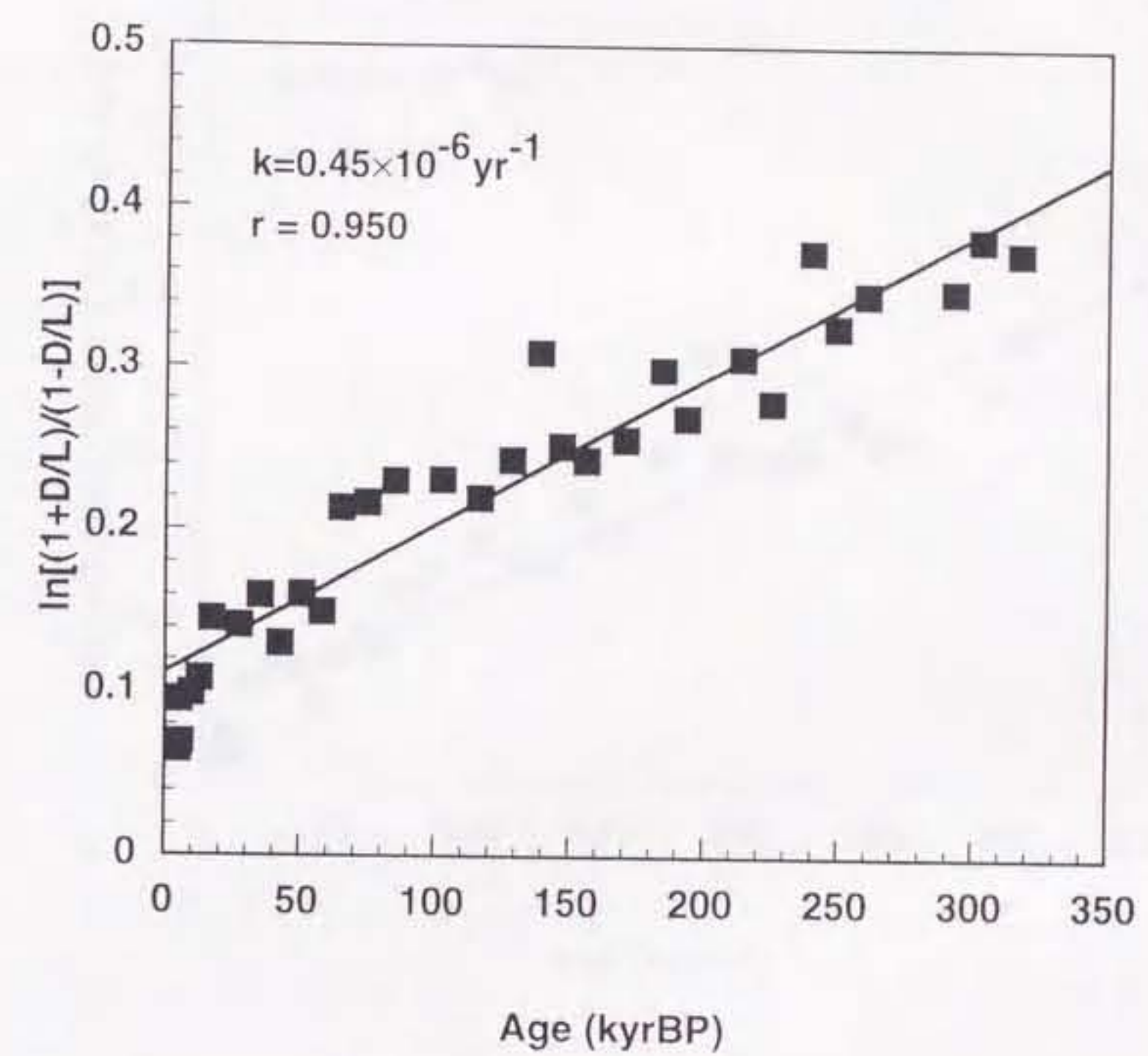


Fig. 25 Relationship between $\ln[(1+D/L)/(1-D/L)]$ of glutamic acid and age determined by ^{14}C and $\delta^{18}\text{O}$ curve.

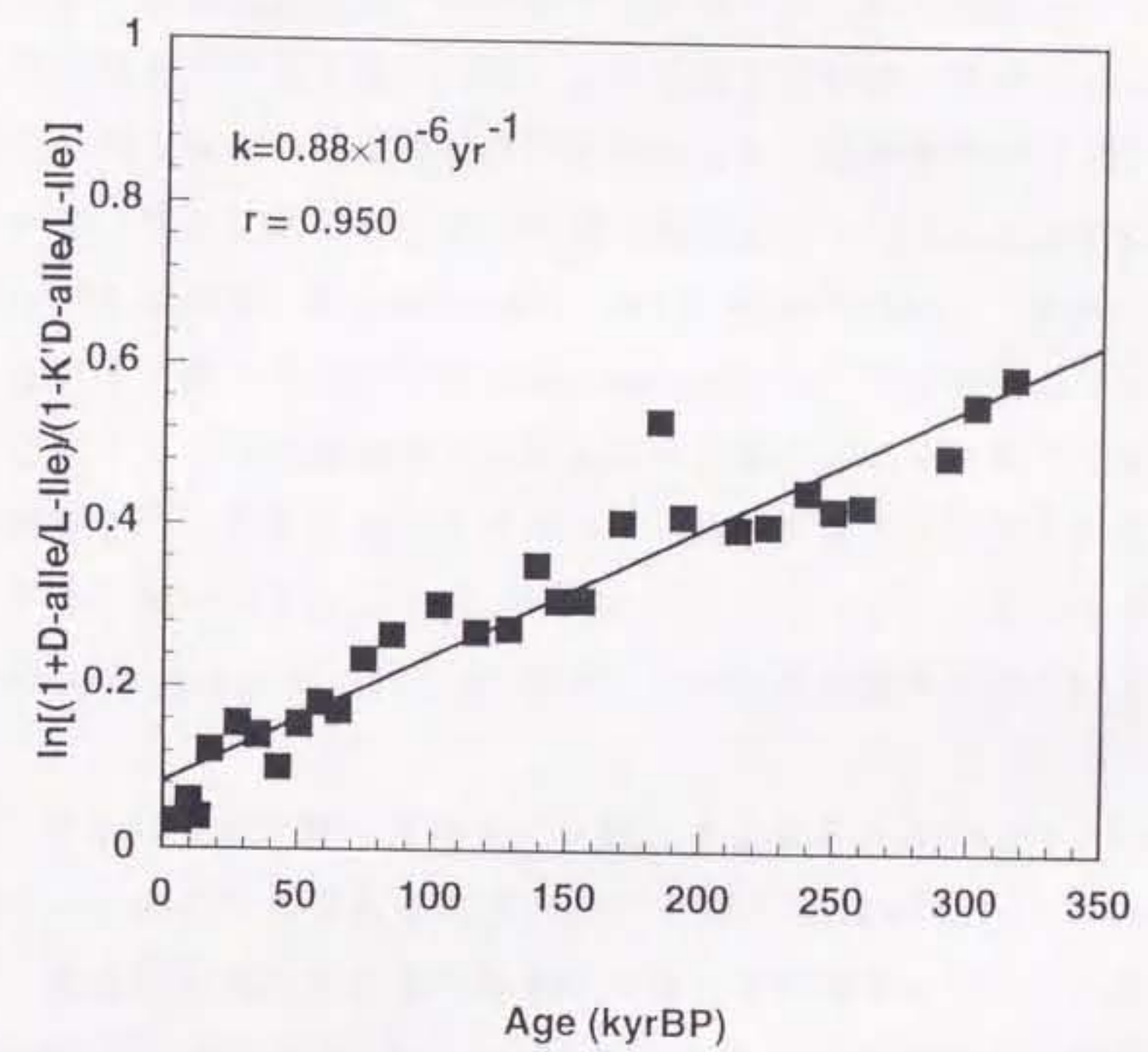


Fig. 26 Relationship between $\ln[(1+D/L)/(1-D/L)]$ of isoleucine and age determined by ^{14}C and $\delta^{18}\text{O}$ curve.

ノ酸の立体構造的因子とR基の電子的因子の組み合わせで決まると考えた。水溶液中での遊離アミノ酸のラセミ化反応速度の実験結果はフェニルアラニン>アラニン>ロイシン>イソロイシン>バリンの順となった。この様なアミノ酸のラセミ化反応速度は、研究室での遊離アミノ酸を試料とした実験と、実際の天然の結合型アミノ酸を試料とした場合とで結果は異なる。これはアミノ酸がどのような種類の堆積物に含まれているか、金属触媒が付近に存在するかどうか等、アミノ酸が存在する周囲の環境がラセミ化反応速度に影響を与えるからである(Bada and Schroeder, 1972; Warnke et al., 1980)。有孔虫に含まれるアミノ酸についてはKvenvolden et al. (1973)が報告している。それによると、カリブ海の堆積物より有孔虫を分離し、アミノ酸のラセミ化反応の昇温実験を行ったところ、アスパラギン酸>アラニン>フェニルアラニン=グルタミン酸=ロイシン=イソロイシン>バリンという結果を得た。本実験でもKvenvolden et al. (1973)の報告とはほぼ同様な結果を得ている。

V-3-2 アスパラギン酸、グルタミン酸、イソロイシンのk値について

*P. obliquiloculata*に含まれるアスパラギン酸の $\ln[(1+D/L)/(1-D/L)]t$ と ^{14}C 年代及び、酸素同位体比年代を対比させて得た直線関係について、年代にして約25,000年前、異性体比にして0.24の点で屈曲点が現れ、この年代より遡ると勾配が小さくなり、その結果 k_{Asp} 値も低くなっていることがわかる。このような屈曲点が現れる原因は、第III章の場合（有孔虫殻の溶解にともなったアミノ酸の滲出によるk値の低下）とは異なると考えられる。なぜなら、この場合は、溶解に対して安定な有孔虫を単一種で分析しているからである。そこで地質時代の進行とともに生じてくる、有機物の続成作用が何らかの影響を与えることが予想されてくる。それには、2つ考えられる。まず1つは、先にも述べた年代とともに低下する加水分解速度がラセミ化反応速度の低下

を促す点である。

この効果によるラセミ化反応速度或いはエピマー化反応速度の低下は、より古い年代を持つ有孔虫試料のイソロイシンのエピマー化反応についても報告されている(Bada and Schroeder, 1972; Schroeder and Bada, 1976)ことは先にも述べた通りである。Müller (1984)は、化石有孔虫殻内で生じるアミノ酸のラセミ化反応或いはエピマー化反応の機構には、続成作用的加水分解の速度が密接に関係すると報告している。それによると、堆積物に埋没した化石有孔虫は、最初は速い速度で生じる加水分解に伴い、アミノ酸のラセミ化反応速度も速く進行するが、地質時代の進行とともに、加水分解に対して安定なポリペプチドが増加するとともに、アミノ酸のラセミ化反応速度も低下し、回帰直線に屈曲点が現れる。この年代は海底堆積物中の炭酸塩化石中のイソロイシンの場合、 $10^5 \sim 10^6$ 年の年代スケールである。

2つ目に考えられるのは続成作用により腐食物質状の化合物へアミノ酸が濃集し、これがラセミ化反応速度を低下させる説である。Collins et al. (1992)によると、地質時代を経て糖とタンパク質の間で濃縮反応が生じ、これらの糖がタンパク質と結合してしまうと報告している。またRafalska et al. (1991)は、この糖-タンパク質結合物質("メラノイジン")がアミノ酸のラセミ化反応速度を低下させる影響を与えるという結果を得ている。彼らの実験によると、L-アミノ酸とD-グルコースを入れた水溶液を 100°C で231日間保った結果、この連続的な加熱によりメラノイジンが生成し、溶液中のアミノ酸とグルコースの濃度も変化していた。その上、メラノイジンに含まれるアミノ酸のD/L値は水溶液中に残っていたアミノ酸のそれに比べ、低かったことがわかった。特にフェニルアラニン、メチオニン、バリン、オルニチンで、この事実が顕著に現れていた。しかしながら、アスパラギン酸ではこのような結果は得られず(Rafalska et al., 1991)、現段階ではアスパラ

ギン酸のラセミ化反応速度が本当にメラノイジンの形成により低下するのかどうかは定かではない。従って、本実験において得られた結果は、おそらく前者の続成的加水分解速度の低下に伴うラセミ化反応速度の低下が原因と考えられ、海底堆積物中の*P. obliquiloculata*に含まれるアスパラギン酸に関して、この屈曲点は異性体比にして0.24、年代にして約25,000年で生じることがわかった。

一方、グルタミン酸とイソロイシンに関しては、屈曲点はみられなかった。両者は、アスパラギン酸に比べk値がかなり小さく、屈曲点が出現するとなると、その年代は本堆積物試料の年代値330,000年以前の可能性がある。しかしながら、屈曲点が得られない場合もある。Sejrup and Haugen (1992)によると、大西洋の海底堆積物から選び出した浮遊性有孔虫のイソロイシンの分析で、昇温実験により、k値を求めているが、このとき異性体比と反応時間との回帰直線で屈曲点は得られていない。昇温実験は高温下(120°C前後)で数日の時間スケールでラセミ化反応を起こすもので、この状態と深海底水温下(2°C前後)で $10^3 \sim 10^6$ 年の時間スケールでラセミ化反応がゆっくり生じる場合とでは、タンパク質の加水分解とそれに伴うのラセミ化反応の機構になにか相違点があり、このため、前者では屈曲点が生じなかったのかもしれない。この点を明らかにするためには、実験による結果と天然の試料の結果をさらに収集し、続成的加水分解速度の低下に伴うラセミ化反応速度の低下と屈曲点との関係をより詳細に解明する必要があるだろう。

V-3-3 アスパラギン酸、グルタミン酸、イソロイシンのk値と文献値との比較

まずアスパラギン酸についてであるが、海底堆積物中の有孔虫に関する文献値が非常に少なく、比較に値するデータは、Kvenvolden et al. (1973)の、

Table 6. Comparison between the observed and calculated values of racemization rate constant (k) of aspartic acid in foraminiferal tests and fossil bones.

Sample	Location	k value (yr ⁻¹)	Field temp. (°C)	Period (kyr)	Method of dating	Reference
foraminifera	17°00'N, 74°28'W	0.78×10 ⁻⁶	4.0	4.0-420	-	Kvenvolden et al. (1973)
foraminifera	17°38'N, 45°52'W	0.20×10 ⁻⁶	2.3	180-2000	-	Kvenvolden et al. (1973)
<i>P. obliquiloculata</i>	0°17.5'S, 158°07'E	1.01×10 ⁻⁵	2.0	0-10	14C	this study
<i>P. obliquiloculata</i>	5°01'N, 156°09'E	1.01×10 ⁻⁵	1.5	0-20	14C	this study
<i>P. obliquiloculata</i>	0°, 160°E	0.94×10 ⁻⁵	2.0	0-20	14C	this study
<i>P. obliquiloculata</i>	0°, 160°E	0.99×10 ⁻⁶	2.0	27-330	14C, δ ¹⁸ O	this study

これによると、過去4,000～420,000年の範囲で、 $0.78 \times 10^{-6} \text{yr}^{-1}$ となり、また過去180,000～2,000,000年の範囲で、 $0.20 \times 10^{-6} \text{yr}^{-1}$ と得られ、年代の古い試料ほど、得られるk値も小さくなっていくのがわかる。本実験で得られた、過去25,000～330,000年の範囲でのk値が $0.99 \times 10^{-6} \text{yr}^{-1}$ とKvenvolden et al. (1973)の4,000～420,000年の範囲のk値と近い値であった。このことから、大西洋と太平洋で海域の違いはあるものの、試料の年代が同じ様な範囲であれば、似通ったk値を示し、k値に海域の差はほとんどないと考えられる。

グルタミン酸の文献値も非常に少ない。表7にグルタミン酸のk値と文献値との比較を示す。同じくカリブ海の有孔虫の結果によると、過去4,000～420,000年の範囲で、 $0.48 \times 10^{-6} \text{yr}^{-1}$ となり、また過去180,000～2,000,000年の範囲で、 $0.18 \times 10^{-6} \text{yr}^{-1}$ と得られた。一方、本実験の結果は、過去0～330,000年の範囲でk値が $0.45 \times 10^{-6} \text{yr}^{-1}$ と、やはりカリブ海の過去4,000～420,000年の範囲のデータとほぼ一致していた。

イソロイシンの場合は誘導体化をせず、タンパク質の加水分解を行った後、液体クロマトグラフィーで定量ができることや、エピマー化反応速度が遅いという点から、多くの研究結果が報告されている(表8)。しかしながら、それでも太平洋の値はなく、しかも有孔虫でもほとんどが全種類を使った結果である。にもかかわらず、本実験で得られた値は、Sejrup and Haugen (1992)やKvenvolden et al. (1973)、Müller (1984)らが出している同じ様な年代範囲を示す試料の値に非常に近く、太平洋と大西洋の差もほとんどみられなかった。

V-3-4 アスパラギン酸、グルタミン酸、イソロイシンのk値と年代測定可能年代範囲の検討

本実験で得られた*P. obliquiloculata*に含まれるアスパラギン酸のk値を用

Table 7. Comparison between the observed and calculated values of racemization rate constant (k) of glutamic acid in foraminiferal tests.

Sample	Location	k value (yr ⁻¹)	Field temp. (°C)	Period (kyr)	Method of dating	Reference
foraminifera	17°00'N, 74°28'W	4.75×10^{-7}	4.0	40-420	-	Kvenvolden et al. (1973)
foraminifera	17°38'N, 45°52'W	1.83×10^{-7}	2.3	180-2000	-	Kvenvolden et al. (1973)
<i>P. obliquiloculata</i>	0°, 160°E	4.53×10^{-7}	2	0-330	δ ¹⁸ O	this study

Table 8. Comparison between the observed and calculated values of racemization rate constant (k) of isoleucine in foraminiferal tests.

Sample	Location	k value (yr ⁻¹)	Field temp. (°C)	Period (kyr)	Method of dating	Reference
<i>N. pachyderma</i>	69°08.4'N, 13°07.2'W	0.884×10 ⁻⁶	-1	0-128	δ ¹⁸ O	Sejrup and Haugen (1992)
<i>N. pachyderma</i>	Pyrolysis experiment	1.20×10 ⁻⁶	-1	-	Arrhenius plot	Sejrup and Haugen (1992)
foraminifera	29°S-30°N 4°W-154°W	1.3×10 ⁻⁶	2.2-4.0	0-2000	Magnetic reversals, fauna, ²³⁰ Th	Whemiller and Hare (1971)
sediment	30°16'N, 43°19'W	1.2×10 ⁻⁶	2.2-2.3	0-1230	Magnetic reversals	Bada et al. (1970)
foraminifera	Mid Atlantic Ridge	2.0×10 ⁻⁶	-	0-162	²³⁰ Th/ ²³¹ Pa	Bada and Schroeder (1972)
foraminifera	17°00'N, 74°28'W	0.71×10 ⁻⁶	4.0	4.0-420	-	Kvenvolden et al. (1973)
foraminifera	17°38'N, 45°52'W	1.34×10 ⁻⁶	2.3	180-2000	-	Kvenvolden et al. (1973)
<i>O. universa</i>	5°40'N, 19°51'W	1.70×10 ⁻⁶	2.7	0-40	δ ¹⁸ O	Müller (1984)
<i>G. tumida- menardii</i>	5°40'N, 19°51'W	1.64×10 ⁻⁶	2.7	0-100	δ ¹⁸ O	Müller (1984)
<i>O. universa</i>	5°40'N, 19°51'W	0.44×10 ⁻⁶	2.7	40-500	δ ¹⁸ O	Müller (1984)
<i>G. tumida- menardii</i>	5°40'N, 19°51'W	0.74×10 ⁻⁶	2.7	100-500	δ ¹⁸ O	Müller (1984)
<i>Pobliquiloculata</i>	0°, 160°E	0.88×10 ⁻⁶	2	0-330	δ ¹⁸ O	this study

可能年代範囲の検討

本実験で得られた *P. obliquiloculata* に含まれるアスパラギン酸の k 値を用いて、実際に海底堆積物の年代測定を行う場合、0~25,000年の年代範囲では、これまでの柱状試料SC-8及びSC-9の値もまとめると、 $0.84\sim0.95\times 10^{-6}\text{yr}^{-1}$ の範囲となる。この k 値の幅も誤差に含まれることになり、やや誤差が大きくなるが、他の年代測定法（例えば、放射性炭素年代）とのクロスチェックに十分利用できるであろう。また、25,000~330,000年までの範囲では、 $0.99\times 10^{-6}\text{yr}^{-1}$ を用いることができる。アミノ酸のラセミ化反応は異性体比が1になるまで一定の反応速度定数で一次反応速度則に従い進行する。従って、反応の終点までこの k 値が使えるという前提でこの k 値によって、理論的には過去1,000,000年まで遡る事が可能である。

グルタミン酸及びイソロイシンの k 値を利用しても、少なくとも過去330,000年までの範囲で年代測定が可能である。グルタミン酸の k 値($0.45\times 10^{-6}\text{yr}^{-1}$)を利用すると理論的には過去5,700,000年、イソロイシンの k 値($0.88\times 10^{-6}\text{yr}^{-1}$)を用いると、過去2,900,000年までの年代を見積もることが可能である。しかしながら、イソロイシンの場合は不斉炭素原子を二つ持つため、LイソロイシンからDアロイソロイシンへのエピマー化反応の平衡定数が定まらず、 1.3 ± 0.5 と誤差が含まれる(Miller and Brigham-Grette, 1989)。このため、年代を見積もる際、誤差が非常に大きくなる。従って、古い年代の見積もりにはイソロイシンよりもグルタミン酸の方が好ましいといえる。

これまで、 k 値を求めた研究がとくにイソロイシンを中心にいくつか報告されてきたが(Wehmiller and Hare, 1971; Bada and Schroeder, 1972; Kvenvolden et al., 1973; Sejrup and Haugen, 1992)、どれもかなり粗いデータセットに関して k 値を求めたものであり、不確かさがかなり含まれると思われる。しかしながら、本実験で得た k 値は、30~40の異性体比分析を行っ

た結果のものであるため、過去の研究結果のどれよりも密に集めたデータセットから見積もられている。しかも、アスパラギン酸に関して数十万年スケールでk値を求めた例は本研究以外にない上に、グルタミン酸やイソロイシンに比べ、非常にばらつきの少ないデータセットであった。従って、少なくとも 10^5 年スケールまでの年代測定には他の2つのアミノ酸より、アスパラギン酸年代が最も誤差の小さいより正確な年代を示すものと考えられる。

V-4 まとめ

(1) 柱状試料2PCに含まれる *P. obliquiloculata* のアミノ酸の異性体比は深さとともに増加し、ラセミ化反応速度はアスパラギン酸が最も大きく、ついでフェニルアラニン、アラニン、イソロイシン、グルタミン酸の順で小さくなっていた。

(2) 一次反応速度則に従って、各アミノ酸についてk値を求めるために、各アミノ酸の $\ln[(1+D/L)/(1-D/L)]t$ と ^{14}C 年代及び、*P. obliquiloculata* の酸素同位体比年代を併せて回帰直線を得た。アスパラギン酸について、両者は非常に良い直線関係を示したが、年代にして約25,000年前、異性体比にして0.24の点で屈曲点が現れ、勾配が変化していた。これは、時間の進行に従い、有孔虫殻中での続成的加水分解速度の低下に伴ったラセミ化反応速度の低下が原因と考えられる。また、この屈曲点で直線を二つに分けてそれぞれについて k_{Asp} 値を求めたところ、現在から25,000年前までの範囲で $0.94 \times 10^{-5} \text{ yr}^{-1}$ ($r=0.99$)、25,000年前から330,000年前の範囲で $0.99 \times 10^{-6} \text{ yr}^{-1}$ ($r=0.99$) となった。一方、イソロイシン及びグルタミン酸については、 $\ln[(1+D/L)/(1-D/L)]t$ と ^{14}C 年代及び、*P. obliquiloculata* の酸素同位体比年代の関係から、k値は $0.88 \times 10^{-6} \text{ yr}^{-1}$ ($r=0.95$)、 $0.45 \times 10^{-6} \text{ yr}^{-1}$ ($r=0.95$) とそれぞれ見積もられた。これらのk値はこれまで報告されているほぼ同じ年代範囲を持つ試料から算

出されているk値に非常に近い値を示し、海域の違いはないことがわかった。

(3) アスパラギン酸のk値を用いて、実際に海底堆積物の年代測定を行う場合、0～25,000年の年代範囲では、ボックスコアのSC-8及び9の値もまとめると、 $0.84 \sim 0.94 \times 10^{-5} \text{yr}^{-1}$ の範囲となった。よってやや誤差が大きくなるが、年代を求めるのみならず、他の年代測定法（例えば、放射性炭素年代）とのクロスチェックに利用できる。また、25,000～330,000年までの範囲では、 $0.99 \times 10^{-6} \text{yr}^{-1}$ を用いて年代測定が可能である。このk値によって、理論的には過去1,000,000年までの年代を算出する事が可能である。

グルタミン酸のk値($0.45 \times 10^{-6} \text{yr}^{-1}$)を利用すると、理論的には過去5,700,000年まで、イソロイシンのk値($0.88 \times 10^{-6} \text{yr}^{-1}$)を用いると、過去2,900,000年までの年代を見積もることが可能である。しかしながら、イソロイシンの場合は不斉炭素原子を二つ持ち、エピマー化反応の平衡定数に誤差が含まれるため、より古い堆積物の年代測定には、グルタミン酸の方が好ましいといえる。

VI アスパラギン酸のラセミ化反応を利用した西部太平洋赤道域の海底堆積物の年代測定を試み

VI-1 はじめに

第V章までは海底堆積物に含まれる有孔虫 *P. obliquiloculata* のアスパラギン酸、グルタミン酸、イソロイシンのラセミ化反応速度定数を求めた。その結果、各アミノ酸の k 値を使いわけること、過去数千年から百万年までの範囲の海底堆積物の年代測定が可能であることが明らかとなった。

本章では実際に海底堆積物の年代を、アスパラギン酸の k 値を用いて見積もることを試みた。ここでアスパラギン酸を選んだ理由は、前章で求められた3種類の k 値のうち、アスパラギン酸の k 値が最もばらつきの少ないデータセットより算出されたものであり、得られる年代の誤差の幅が他の2つの k 値から算出するものより小さいと考えられるからである。

堆積物は西部太平洋赤道域にて得られた柱状試料3bPCを用いた。この堆積物と同時に付近でもう一本、柱状試料3aPCが得られており、こちらはすでに酸素同位体比変動曲線により年代の見積もりが行われている。この結果とアミノ酸のラセミ化反応年代測定法より見積もった柱状試料3bPCの結果とが、矛盾のないものかどうかの検討を行った。

VI-1-1 帯磁率により年代を見積もる方法

海底堆積物の帯磁率はそこに含まれる磁性鉱物が同じであれば、堆積物中の磁性鉱物の量を示す。また、酸素同位体比に示される環境変化に対応したような周期的な帯磁率の変化が報告されている(Oldfield, 1991)。このように、海底堆積物の帯磁率が氷期-間氷期における変動パターンを示す原因は、海域により異なるが、氷期-間氷期における炭酸カルシウム含有量の変

化や河川や大気を通じての陸起源粒子の供給の変動を反映していると考えられている（西村ら、1993）。この帯磁率の変動の特徴的なピークと酸素同位体比変動パターンとをあわせることにより、年代の見積もりをすることができる。3bPCに関しては帯磁率は測定されているが酸素同位体比は測定されていない。一方、3aPCに関しては帯磁率及び酸素同位体比が測定されている。そこで、3aPCと3bPCの帯磁率のピークを比較して、さらにそれと3aPCの酸素同位体比曲線のピークとを対比させて、3bPCのおおよその年代を見積もることとした。そして、この年代とアミノ酸年代との比較を行った。

VI-2 結果

VI-2-1 柱状試料3bPCに含まれる *P. obliquiloculata* のアスパラギン酸の異性体比の鉛直分布

3bPCは炭酸塩堆積物であり、有孔虫が多く含まれている。このうち *P. obliquiloculata* を選別し、アスパラギン酸の異性体比を測定した（図27）。上部の一点を除いて、深さとともに連続的に増加している。また上部の一点が不連続なのは、堆積物の採取の際に、上部が約30cm欠損したためである。また、深さにして80cm、150cmのところで堆積速度が低下しているのがわかる。

これらの異性体比の結果からラセミ化反応年代を求めた（表9）。このとき異性体比にして0.24より小さい値はラセミ化反応速度定数 $0.94 \times 10^{-5} \text{yr}^{-1}$ を、0.24より大きい値には $0.99 \times 10^{-6} \text{yr}^{-1}$ を用いて年代を見積もった。年代は表層（1.25cm深）から353cmまで算出し、表層で7,600年前、353cmで307,000年前の範囲でそれぞれ見積もられた。堆積速度は表層の一点を除くと、 $0.5 \sim 1 \text{cm}/10^3 \text{年}$ となった。

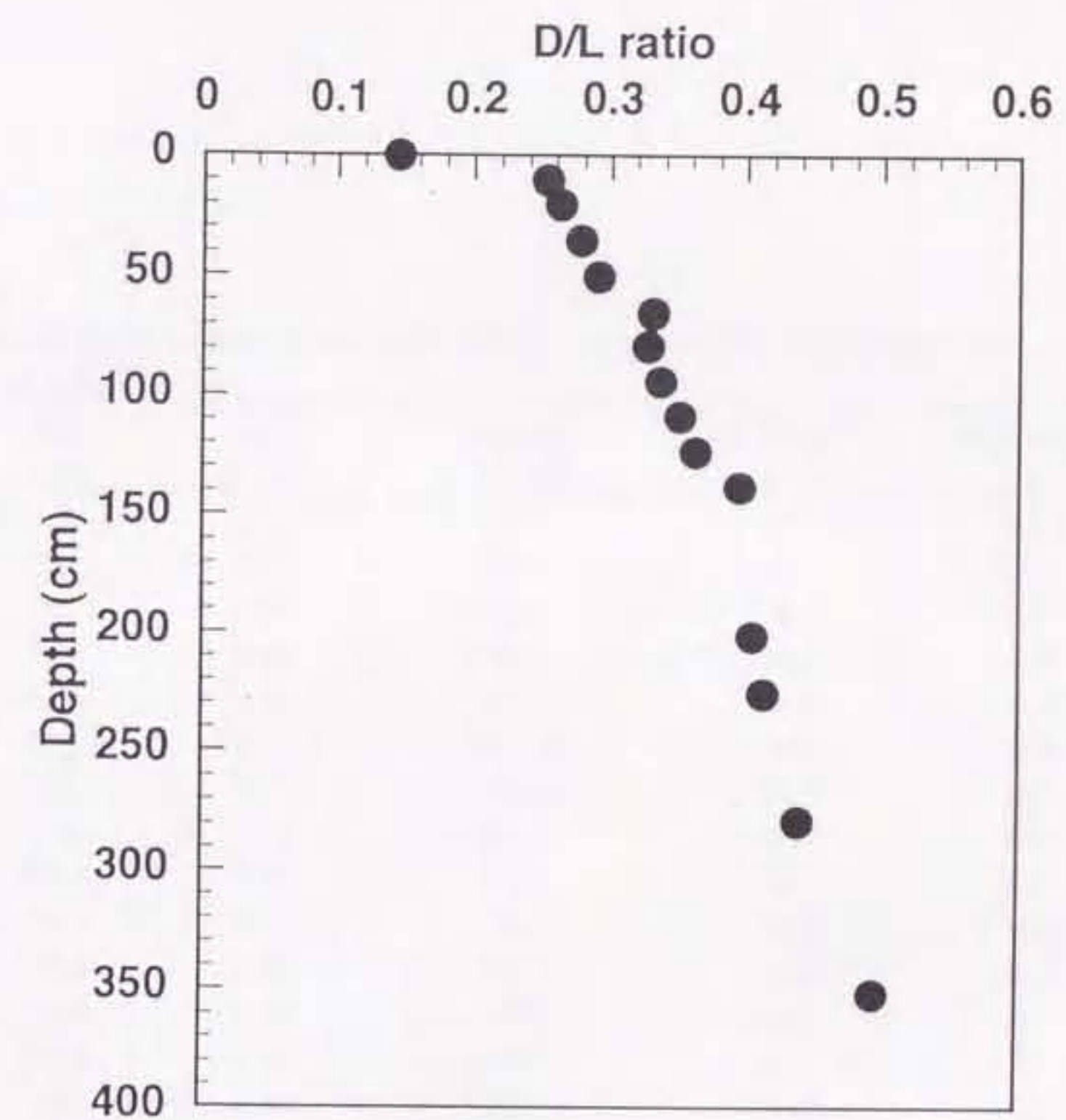


Fig. 27 Vertical profile of the ratio of aspartic acid isomers in *P. obliquiloculata* from the core 3bPC.

Table 9

Ages calculated by Asp racemization reaction chronology and glacial-interglacial variation of $\delta^{18}\text{O}$.

depth (cm)	Asp D/L value	Asp age ($\times 10^3$ yBP)	$\delta^{18}\text{O}$ age ($\times 10^3$ yBP)	difference* ($\times 10^3$)
1.3	0.14	7.6	19.9	-12.3
11.3	0.25	21.2	28.2	-7.0
21.3	0.26	32.0	36.7	-4.7
36.3	0.28	48.3	49.2	-0.9
51.3	0.29	62.6	61.7	0.9
66.3	0.33	107.4	74.4	33.0
80.4	0.33	104.0	85.9	18.1
95.0	0.34	114.2	100.3	13.9
109.7	0.35	131.4	124.7	6.7
124.3	0.36	144.1	130.9	13.2
139.0	0.40	183.1	136.4	46.6
202.4	0.41	193.9	194.6	-0.7
226.8	0.41	203.6	223.3	-19.7
280.3	0.44	235.7	270.0	-34.3
352.9	0.49	306.8	-	-

*Difference = Asp age - $\delta^{18}\text{O}$ age

VI-2-2 *P. obliquiloculata*のアスパラギン酸年代と酸素同位体比年代の比較

3bPCに関して、*P. obliquiloculata*のアスパラギン酸年代と、3aPCと3bPCの帯磁率と3aPCの酸素同位体比変動曲線から見積もった年代の比較を行った(図28)。これによると堆積物全体を通して、アスパラギン酸年代と酸素同位体比年代とはいくつか顕著な差がみられたものの、よい対応を示していた。特に顕著な差が生じたのは、表層に関しては12,300年の違いが生じた。それより古い堆積物に関しては約70,000年前(深度60cm)まではほぼ一致した年代を示していた。また、それ以深で再び差が生じ、特に66cmで33,000年、140~170cmで~46,600年、280cmで34,300年の大きな格差がみられた。尚、酸素同位体比年代は過去約270,000年までしか出されていないため、これより古い年代に関しては比較はできない。

VI-3 考察

VI-3-1 堆積物3bPCの上部で現れたアスパラギン酸年代と酸素同位体比年代の年代差について

3bPCのアスパラギン酸年代と酸素同位体比年代は一致しない部分があるがいくつかみられた。

表層の年代であるが、3bPCは表面の堆積物が最終氷期分欠損していることがわかっているため、酸素同位体比年代では最初の年代を最終氷期に入る時期である19,900年を当てはめている。一方、アスパラギン酸年代では7,600年と算出されていた。堆積物はサンプリングの際、上部が欠損したといっても、きれいに20,000年分(約30cm)がなくなっているとは考え難く、飛ばされた30cmが乱されて一部残り、それがアスパラギン酸年代で7,600年という年代を提示したものと思われる。酸素同位体比年代はピークを対比さ

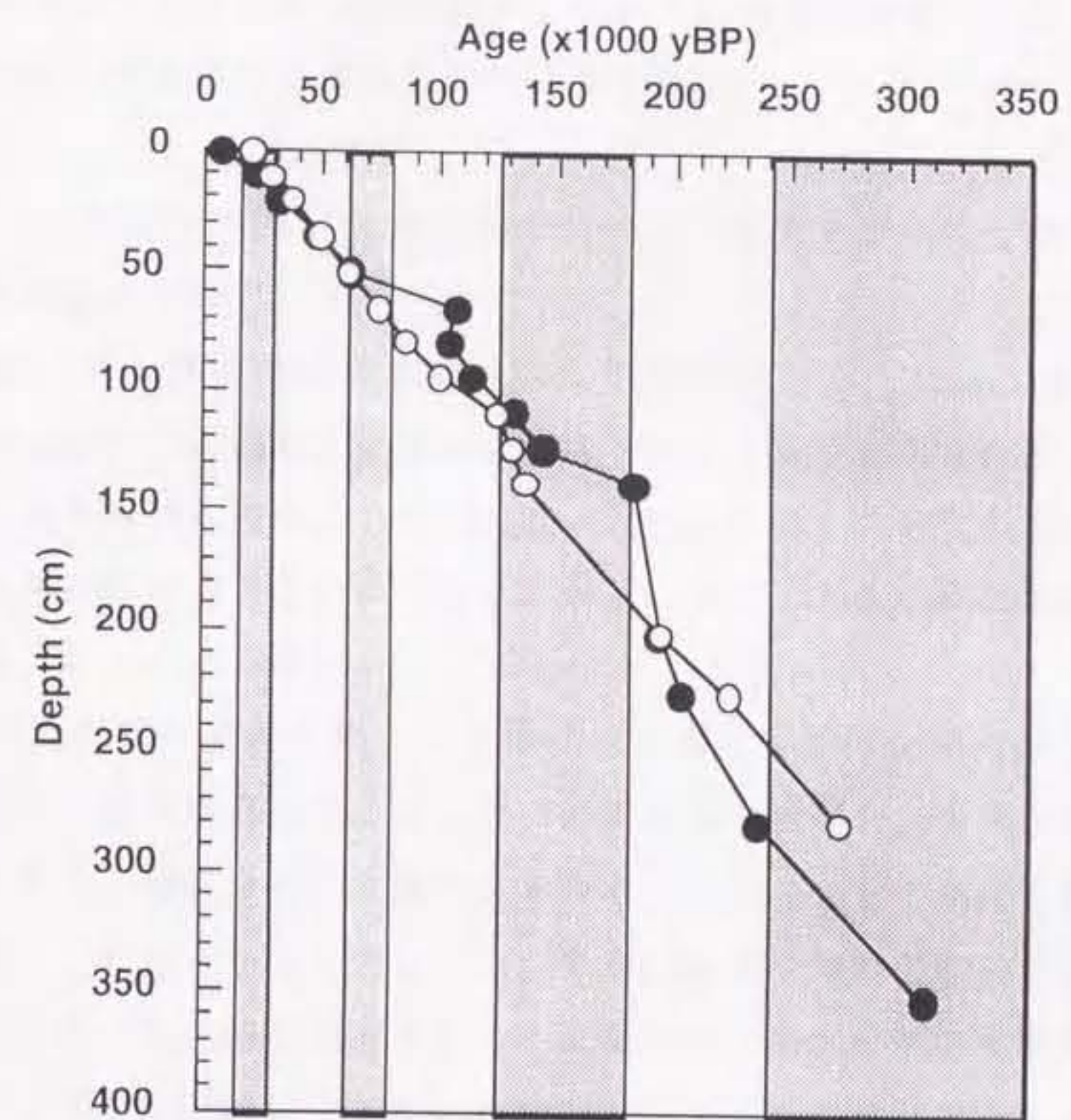


Fig. 28 Comparison between the aspartic acid age (●) and $\delta^{18}\text{O}$ age (○) of *P. obliquiloculata* from core 3bPC. The hatched areas show a glacial period.

せて得る方法であるため、堆積物がこのように何らかの働きで混ぜ合わされた場合には正確な年代を求めることはできない。

VI-3-2 堆積物3bPCの下部で現れたアスパラギン酸年代と酸素同位体比年代の年代差について

アスパラギン酸年代と酸素同位体比年代に関して、70cmで33,000年、140～170cmで～46,600年、280cmで34,300年の格差がみられた。この結果に関して考えられるのは、70cmと140～170cmの深度の年代差については、アスパラギン酸が古すぎるのではないかという点、あるいは酸素同位体比年代に問題がある点である。

アミノ酸年代を求める際、異性体比を分析する操作上で汚染が入ると、正しい年代の算出は難しい。もし仮に汚染が入った場合、生体を含めて汚染源となるアミノ酸はすべてL体であるので、汚染によって年代を新しくすることはあっても古くなることはない。また、加水分解の温度条件によっては人工的にラセミ化反応を促進することになるが、加水分解の温度条件は全試料同じで、しかも同時に行っているのも、一つ二つの試料のみに不具合があったとは考え難い。

一方、酸素同位体比年代であるが、3aPCで得られている酸素同位体比曲線を測定した有孔虫種は*P. obliquiloculata*ではない。基本的には、種類によって酸素同位体比の値は違っても氷期-間氷期の変動パターンに違いはなく、どの種を用いても同じ年代を示すはずであるが、堆積物が溶解の影響を受けていると選択的に解けにくい種が残り、種類により酸素同位体比の氷期-間氷期変動パターンに違いを生じさせる可能性もある。

また、両年代測定法間で大きな年代差が現れたのは、海洋環境の変化と関係があるかもしれない。Nakatsuka et al. (1995)によると、3bPCを採取し

た地点付近では北赤道海流(NEC)、ミンダナオ海流(MC)、北赤道反流(NECC)の三つの海流からなる循環系が存在し、深層水の湧昇が起こっている。これらの海流の循環系が3bPC海域の湧昇の強さをコントロールしている。Nakatsuka et al. (1995)の堆積物中の $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ の記録によると、NECとNECCの境界が湧昇の流軸であり、それが氷期には北へ、間氷期には南へと移動を繰り返してきたとともに、高生産性海域も移動していたらしい。特に、3bPCにおける湧昇の強度は氷期と氷期から間氷期へと移る時期に強い傾向にあった。堆積物3bPCにおいて両年代測定法の年代差が著しい、60~70cmの年代はまさにこの氷期にあたる。また、Pedersen (1983)とPrice (1988)は氷期に太平洋赤道域で表層の基礎生産量が高まったと報告している。さらに、Wu et al. (1991)によると、表層での基礎生産量の上昇は海底への有機物沈降量を増やし、これが海底で堆積物-水境界層での有機物分解を促進させ、pHを下げ、ひいては現場の炭酸塩堆積物の溶解を促進させると報告している。以上のような海洋環境が著しく変動する時期と、本研究で得られた特に年代差の大きかった時期とはよく一致しており、このような堆積物の溶解イベントが、60~70cm、140~150cmで堆積速度を小さくし、アスパラギン酸年代と酸素同位体比年代の格差を生んだ可能性がある。この時期の溶解イベントの出現はまた、松岡ら(1994)によっても報告されている。しかし、溶解イベントがアミノ酸年代で見つかり、酸素同位体比年代でみられなかったのはなぜか？このからくりはよくわからないが、アミノ酸年代と酸素同位体比年代に環境変動に対して応答する感度が異なり、酸素同位体比年代の方が感度が低いためこのような結果となったのかもしれない。

VI-4 まとめ

(1) 柱状試料3bPCに含まれる *P. obliquiloculata* のアスパラギン酸の異

性体比からラセミ化反応年代を求めた。年代は表層(1.3cm深)から353cmまで算出し、表層で7,600年前から353cmで307,000年前の範囲で見積もられた。堆積速度は表層の一点を除くと、 $0.5 \sim 1 \text{ cm}/10^3 \text{ 年}$ となった。

(2) 柱状試料3bPCのアスパラギン酸年代と酸素同位体比年代は一致しない部分がいくつかみられた。表層で、12,300年、深さ70cmで33,000年、140~170cmで~46,600年、280cmで34,300年の大きな年代の格差がみられた。これらのことから、酸素同位体比年代測定法など、照らし合わせによる年代測定法では、堆積物が安定した堆積環境で堆積していない場合には、標準の曲線に照らし合わせることが難しく、正確な年代を決められないことが明らかとなった。

また、氷期から間氷期への移行期と氷期に3bPCの海域で湧昇流の強度が増し、表層での基礎生産量の増大、海底への沈降粒子束の増加、海底付近での有機物分解の促進、深層水のpH低下、炭酸塩堆積物の溶解の促進と一連のイベントが生じた可能性があり、このイベントがアミノ酸年代と酸素同位体比年代の格差を生じた原因の一つではないかと考えられる。しかしながら、その他の部分では両年代測定法による2つの年代はそれほど矛盾なく一致していた。従って、過去数十万年のオーダーの堆積物の年代測定法として、アスパラギン酸のラセミ化反応年代測定法は充分役立つと判断される。

VII 結語

本研究では、深海底の炭酸塩堆積物に存在する浮遊性有孔虫殻に含まれるアミノ酸のラセミ化反応を利用して、過去 $10^5 \sim 10^6$ 年範囲の年代測定法の確立を試みた。そして、以下のような結果を得た。

1) 西部太平洋赤道域で採取された過去20,000年にわたる炭酸塩堆積物のアスパラギン酸のラセミ化反応による年代測定法の確立を試みた。

堆積物に含まれる有孔虫を全種類完全固体も破片も含めて分析し、アスパラギン酸のラセミ化反応速度定数(k値)を求めた。k値を算出するために、アスパラギン酸の $\ln[(1+D/L)/(1-D/L)]t$ と ^{14}C 年代の回帰直線を得たが、一部の堆積物では一つの直線を示さず、約15,000年で屈曲点を持ち、15,000年より古い年代範囲では低いk値を示していた。このように途中からアスパラギン酸のk値が低くなった主な原因は、有孔虫の殻の溶解によって、異性体比が高く構造が小さい遊離アミノ酸が殻外へ滲出したためと考えられる。これにより、見かけ上のラセミ化反応速度に変化を与えたものと判断される。

2) 有孔虫殻の溶解によるアミノ酸のラセミ化反応速度定数への影響を防ぐために、溶解に対して比較的強い種である *P. obliquiloculata* を堆積物より単離し、その殻のアスパラギン酸の $\ln[(1+D/L)/(1-D/L)]t$ と ^{14}C 年代から正確なk値を求めることを試みた。その結果、非常に高い相関係数とともに両者に直線関係が認められ、過去2万年までの堆積物においてアスパラギン酸のk値は $0.84 \sim 0.94 \times 10^{-5} \text{ yr}^{-1}$ と算出された。また、このk値を利用することにより、少なくとも数万年までの海底堆積物の年代測定が可能であることが示唆された。

3) *P. obliquiloculata* を利用して、過去20,000年より古い海底堆積物の年代測定を行うために、過去330,000年の海底堆積物のアスパラギン酸、グルタミン酸、イソロイシンのラセミ化反応速度定数の見積もりを行った。

アスパラギン酸の $\ln[(1+D/L)/(1-D/L)]t$ と ^{14}C 年代及び酸素同位体比年代の関係は、良い直線関係を示したが、25,000年前（異性体比にして0.24）の点で屈曲点が現れ、これより古い年代ではラセミ化反応速度が低下していた。これは時間の進行にともなって、続成的加水分解速度が低下し、これに伴いラセミ化反応速度の低下が生じたためと考えられる。従って、この屈曲点で二つにわけて k 値を求めたところ、現在から25,000年前までの範囲では、 $0.94 \times 10^{-5} \text{yr}^{-1}$ とこれまで得られている過去20,000年の *P. obliquiloculata* のアスパラギン酸の k 値 $0.84 \times 10^{-5} \text{yr}^{-1}$ に近い値が得られた。また、25,000年前から330,000年前の範囲で $0.99 \times 10^{-6} \text{yr}^{-1}$ と $0.94 \times 10^{-5} \text{yr}^{-1}$ より一桁小さい値が得られた。一方、イソロイシン及びグルタミン酸については両者の関係から k 値は $0.88 \times 10^{-6} \text{yr}^{-1}$ 、 $0.45 \times 10^{-6} \text{yr}^{-1}$ とそれぞれ見積もられた。以上の3つのアミノ酸の k 値はこれまで報告されているほぼ同じ年代範囲を持つ大西洋の堆積物や、有孔虫の値と矛盾のないものであり、海域による差はほとんどないことが明らかとなった。

4) アスパラギン酸の k 値 $0.99 \times 10^{-6} \text{yr}^{-1}$ を使うことにより、理論的には過去1,000,000年までの年代を算出する事が可能で、グルタミン酸の k 値($0.45 \times 10^{-6} \text{yr}^{-1}$)を利用すると過去5,700,000年まで、イソロイシンの k 値($0.88 \times 10^{-6} \text{yr}^{-1}$)を用いると、過去2,900,000年までの年代を見積もることが可能である。

5) 得られたアスパラギン酸の k 値を用いて、過去270,000年までの海底堆積物の年代を実際に求めた。その結果、従来の年代測定法である酸素同位体比変動曲線から見積もった年代と大まかに一致するが、堆積物の深度によっては最大で数万年までの格差がみられた。これは堆積物の状態から判断すると、酸素同位体比曲線から見積もった年代に問題があったこと、或いは地質時代を通じて生じていた溶解イベントによってもたらされた可能性があ

ることが示唆された。従って、酸素同位体比年代測定法の様に、照らし合わせによる年代測定法では、正確な年代がきめられないような場合、例えば浸食や溶解の影響を受けていたり、ハイエタスが存在するような堆積物でもアミノ酸による年代測定法は、問題なく年代を見積もることができ、実用的な年代測定法の1つとして充分に利用できると判断された。

謝辞

堆積物試料は、東京大学海洋研究所所有の白鳳丸の三度の航海にて採取された。その際、作業を進めるに当たり、各航海の堆積物採取の指揮にあられた、東京大学海洋研究所の野崎義行博士、同じく東京大学海洋研究所の白山義久博士、北海道大学理学部地球環境研究科の大場忠道博士、同じく北海道大学理学部地球環境研究科の村山雅史博士をはじめ、他の研究者の方々及び白鳳丸の船員の方々に作業をサポートして頂いた。さらに大場博士には、浮遊性有孔虫の分類法を教えて頂いた。また、酸素同位体比の測定に際し、試料の前処理の方法、分析計の取り扱い、調整等も教えて頂いた。さらに名古屋大学アイソトープセンター年代資料測定研究センターの中村俊夫博士並びに国際日本文化研究センターの北川浩之博士には、放射性炭素年代測定に際し、試料の調整法や加速器質量分析計の取り扱いを教えていただいた。

最後に、本研究を進めるにあたり、本論文著者の指導責任者である半田暢彦教授をはじめ、大気水圏科学研究所の諸氏には、論旨の進め方や考察に関して、ご指導及びご鞭撻を頂いた。ここに心より感謝の意をささげる。

引用文献

- Bada J. L. (1971) Kinetics of the nonbiological decomposition and racemization of amino acids in natural waters. In: *Non-Equilibrium Systems in Natural Water Chemistry, Advances in Chemistry Series*, 106, (Edited by Gould R. F.), American Chemical Society, pp309-331.
- Bada J. L. (1985) Racemization of amino acids. In: *Chemistry and Biochemistry of the Amino Acids*. (Edited by Barrett G. C.), Chapman and Hall, pp399-414.
- Bada J. L. and Helfman P. M. (1975) Amino acid racemization dating of fossil bones. *World Archaeology*, 7, 160-173.
- Bada J. L. and Man E. H. (1980) Amino acids diagenesis in deep sea drilling project cores; kinetics and mechanisms of some reactions and their applications in geochronology and in paleotemperature and heat flow determinations. *Earth Science Rev.*, 16, 21-55.
- Bada J. L. and Protsh R. (1973) Racemization reaction of aspartic acid and its use in dating fossil bones. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 70, 1331-1334.
- Bada J. L. and Schroeder R. A. (1972) Racemization of isoleucine in calcareous marine sediments; kinetics and mechanism. *Earth and Planet.*

Sci. Lett., 15, 1-11.

Bada J. L. and Schroeder R. A. (1975) Amino acid racemization reactions and their geochemical implications. *Naturwissenschaften*, 62, 71-79.

Bada J. L., Luyendyk B. P. and Maynard J. B. (1970) Marine sediments; dating by the racemization of amino acids. *Science*, 170, 730-732.

Bada J. L., Schroeder R. A., Protsh R. and Berger R. (1974) Concordance of collagen-based radiocarbon and aspartic-acid racemization ages. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 71, 914-917.

Bard E., Arnold M., Fairbanks R. G. and Hamelin B. (1993) ^{230}Th - ^{234}U and ^{14}C ages obtained by mass spectrometry on corals. *Radiocarbon*, 35, 191-199.

Bard E., Hamelin B., Fairbanks R. G. and Zindler A. (1990) Calibration of ^{14}C timescale over the past 30,000 years using mass spectrometric U-Th ages from Barbados corals. *Nature*, 345, 405-410.

Bé A. W. H. (1977) An ecological, zoogeographic and taxonomic review of recent planktonic foraminifera. In: *Oceanic micropaleontology* vol. 1, (Edited by Ramsay A. T. S.), Academic Press, pp1-100.

Belluomini G. and Delitala L. (1988) Amino acid racemization dating of

Quaternary deposits of central and southern Italy. *Org. Geochem.*, 13, 735-740.

Broecker W. S. (1982) Ocean chemistry during glacial time. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 46, 1689-1705.

Carter P. W. (1978) Adsorption of amino acid-containing organic matter by calcite and quartz. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 42, 1239-1242.

Collins M. J., Westbroek P., Muyzer G. and deLeeun J. W. (1992) Experimental evidence for condensation reactions between sugars and proteins in carbonate skeletons. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 56, 1539-1544.

Degens E. T. (1968) Molecular nature of nitrogenous compositions in sea water and recent marine sediments. In: *Organic Matter in Natural Water*, (Edited by Hood D. W.), Symposium at University of Alaska, pp77-106.

Degens E. T., Spencer D. W. and Parker R. H. (1967) Paleobiochemistry of molluscan shell proteins. *Comp. Biochem. Physiol.*, 20, 553-579.

Duplessy J. C., Shackleton N. J., Fairbanks R. G., Labeyrie L., Oppo D. and Kallel N. (1988) Deep water source variations during the last climatic cycle and their impact on the global deep water circulation. *Paleoceanography*, 3, 343-360.

Faber W. W. Jr, Anderson O. R., Lindsey J. L. and Caron D. A. (1988) Algal foraminiferal symbiosis in the planktonic foraminifer *Globigerinella Aquilateralis*; I. Occurrence and stability of two mutually exclusive chrysophyte endosymbionts and their ultrastructure. *J. Foram. Res.*, 18, 334-343.

Goodfriend G. A. (1987a) Evaluation of amino acid racemization/epimerization dating using radiocarbon-dated fossil land snails. *Geology*, 15, 698-700.

Goodfriend G. A. (1987b) Chronostratigraphic studies of sediments in the Negev Desert, using amino acid epimerization analysis of land snail shells. *Quat. Res.*, 28, 374-392.

Goodfriend G. A. (1991) Patterns of racemization and epimerization of amino acids in land snail shells over the course of the Holocene. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 55, 293-302.

Goodfriend G. A. (1992) Rapid racemization of aspartic acid in mollusk shells and potential for dating over recent centuries. *Nature*, 357, 399-401.

Goodfriend G. A. and Meyer U. R. (1991) A comparative study of the kinetics of amino acid racemization/epimerization in fossil and modern

mollusk shells. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 55, 3355-3367.

Goodfriend G. A., Hare P. E. and Druffel E. R. M. (1992) Aspartic acid racemization and protein diagenesis in corals over the last 350 years. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 56, 3847-3850.

Hare P. E. and Mitterer R. M. (1968) Laboratory simulation of amino acid diagenesis in fossils. *Carnegie Inst. Washington Yearb.*, 67, 205-208.

Hearty P. J. and Aharon P. (1988) Amino acid chronostratigraphy of late Quaternary coral reefs: Huon Peninsula, New Guinea, and the Great Barrier Reef, Australia. *Geology*, 16, 579-583.

Imbrie J., Hays J. D., Martinson D. G., McIntyre A., Mix A. Morley J., Pisias N. G., Prell W. and Shackleton N. J. (1984) The orbital theory of Pleistocene climate : support from a revised chronology of the marine $\delta^{18}\text{O}$ record. In: *Milankovitch and Climate. Part I*, (Edited by Berger A. et al.), Riedel, pp269-305.

King K. Jr (1974) Reserved amino acids from silicified protein in fossil radiolaria. *Nature*, 252, 690-692.

King K. Jr (1980) Application of amino acid biogeochemistry for marine sediments. In: *Biogeochemistry of Amino Acids*. (Edited by Hare P. E. et al.), John Wiley & Sons, Inc., pp377-391.

King K. Jr and Hare P. E. (1972) Amino acid composition of the test as a taxonomic character for living and fossil planktonic foraminifera. *Micropaleontology*, 18, 285-293.

King K. Jr and Neville C. (1977) Isoleucine epimerization for dating marine sediments; importance of analyzing monospecific foraminiferal samples. *Science*, 195, 1333-1335.

Kitagawa H., Masuzawa T., Nakamura T. and Matsumoto E. (1993) A batch preparation method for graphite targets with low background for AMS ^{14}C measurements. *Radiocarbon*, 35, 295-300.

Kriaušakul N. and Mitterer R. M. (1978) Isoleucine epimerization in peptides and proteins; kinetic factors and application to fossil proteins. *Science*, 201, 1011-1014.

Kriaušakul N. and Mitterer R. M. (1980) Composition of isoleucine epimerization in a model dipeptide and fossil protein. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 44, 753-758.

Kvenvolden K. A., Peterson E., Wehmiller J. and Hare P. E. (1973) Racemization of amino acids in marine sediments determined by gas chromatography. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 37, 2215-2225.

Labeyrie L. D., Duplessy J. C. and Blanc P. L. (1987) Variations in mode of formation and temperature of oceanic deep waters over the past 125,000 years. *Nature*, 327, 477-482.

Lee C. and Bada J. L. (1977) Dissolved amino acids in the equatorial Pacific, the Sargasso Sea, and Biscayne Bay. *Limnology and Oceanography*, 22, 502-510.

Manning J. M. (1970) Determination of D- and L-amino acid residues in peptides. Use of tritiated hydrochloric acid to correct for racemization during acid hydrolysis. *J. Am. Chem. Soc.*, 92, 7449-7454.

Martinson D. G., Pisias N. G., Hays J. D., Imbrie J., Moore T. C. and Shackleton N. J. (1987) Age dating and the orbital theory of the ice ages: chronostratigraphy. *Quat. Res.*, 27, 1-29.

松岡裕美、木元克典、山口さやか (1994) 北西太平洋における深海堆積物中の炭酸塩の保存状態の変化。 *月刊海洋*, 26, 425-428.

Meister A. (1965) *Biochemistry of amino acids* (2nd edition). Academic Press, New York, N.Y., pp 1084.

Miller G. H. and Bringham-Grette J. (1989) Amino acid geochronology; resolution and precision in carbonate fossils. *Quaternary International*, 1, 111-128.

Mitterer R. M. and Kriausakul N. (1989) Calculation of amino acid racemization ages based on apparent parabolic kinetics. *Quat. Sci. Rev.*, 8, 353-357.

Müller P. J. (1984) Isoleucine epimerization in Quaternary planktonic foraminifera; effects of diagenetic hydrolysis and leaching, and Atlantic-Pacific intercore correlations. *"Meteor" Frosch-Ergebnisse*, C, 25-47.

Müller P. J. and Suess E. (1977) Interaction of organic compounds with calcium carbonate-III. Amino acid composition of sorbed layers. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 41, 941-949.

Nakamura T. and Nakai N. (1988) Fundamentals of radiocarbon dating-with accelerator mass spectrometry. *Mem. Geol. Soc. Japan* No. 29 pp83-106.

Nakaparksin E. and Oró J. (1970) Study of the racemization of some neutral α -amino acids in acid solution using gas chromatographic techniques. *Anal. Biochem.*, 33, 374-382.

Nakatsuka T., Harada N., Matsumoto E., Handa N., Oba T., Ikehara M., Matsuoka H. and Kimoto K. (1995) Glacial-interglacial migration of an upwelling field in the western equatorial Pacific recorded by sediment $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$. *Geophys. Res. Lett.*, 22, 2525-2528.

西村昭、池原研、井岡昇、山崎俊嗣 (1993) 西カロリン海盆の堆積史と海洋大循環 月刊海洋、276, 350-355.

Oldfield F. (1991) Environmental magnetism - a personal perspective. *Quat. Sci. Rev.*, 10, 73-85.

Pedersen T. F. (1983) Increased productivity in the eastern equatorial Pacific during the last glacial maximum (19,000 to 14,000 yr B.P.). *Geology*, 11, 16-19.

Price B. A. (1988) Equatorial Pacific sediments: Studies on amino acid, organic matter, and manganese deposition. Ph.D. Dissert., Univ. Calif., San Diego, La Jolla, Calif., pp 364.

Rafalska J. K., Engel M. H. and Lanier W. P. (1991) Retardation of racemization rates of amino acids incorporated into melanoidins. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 55, 3669-3675.

Schroeder R. A. and Bada J. L. (1973) Glacial-postglacial temperature difference deduced from aspartic acid racemization in fossil bones. *Science*, 182, 479-482.

Schroeder R. A. and Bada J. L. (1976) A review of the geochemical application of the amino acid racemization reaction. *Earth Science Rev.*, 12, 347-391.

Sejrup H. P. and Haugen J-E. (1992) Foraminiferal amino acid stratigraphy of the Nordic Seas: geological data and pyrolysis experiments. *Deep-Sea Res.*, 39, 603-623.

Shackleton N. J., Imbrie J. and Hall M. A. (1983) Oxygen and carbon isotope record of East Pacific core V19-30; implications for the formation of deep water in the late Pleistocene North Atlantic. *Earth and Planet. Sci. Lett.*, 65, 233-244.

Smith G. G. and Evans R. C. (1980) The effect of structure and conditions on the rate of racemization of free and bound amino acids. In: *Biogeochemistry of Amino Acids.*, (Edited by Hare P. E. et al.), John Wiley & Sons, Inc., pp257-282.

Smith G. G., Williams K. M. and Wannacott D. M. (1978) Factors affecting the rate of racemization of amino acids and their significance to geochronology. *J. Org. Chem.*, 43, 1-5.

Stuiver M. (1983) International agreements and the use of the new oxalic acid standard. *Radiocarbon*, 25, 793-795.

Stuiver M. and Braziunas T. F. (1993) Modeling atmospheric ^{14}C influences and ^{14}C ages of marine samples to 10,000 BC. *Radiocarbon*, 35, 137-189.

Stuiver M. and Polach A. (1977) Reporting of ^{14}C data. *Radiocarbon*, 19, 355-363.

Stuiver M. and Reimer P. J. (1993) Extended ^{14}C data base and revised CALIB 3.0 ^{14}C age calibration program. *Radiocarbon*, 35, 215-230.

Vogel J. S., Nelson D. E. and Southon J. R. (1987) ^{14}C background levels in an accelerator mass spectrometry system. *Radiocarbon*, 29, 323-333.

Vogel J. S., Southon J. R., Nelson D. E. and Brown T. A. (1984) Performance of catalytically condensed carbon for use in accelerator mass spectrometry. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research*, B5, 289-293.

Warnke D. A., Blunt D. J. and Pollock G. E. (1980) Enantiomeric ratios of amino acids in Southern-Ocean siliceous ooze. In: *Biogeochemistry of Amino Acids*. (Edited by Hare P. E. et al.) John Wiley & Sons, Inc., pp183-189.

Wehmiller J. F. (1993) Applications of organic geochemistry for Quaternary research; aminostratigraphy and aminochronology. In: *Organic Geochemistry* (Edited by Engel M. H. and Macko S. A.), Plenum Press, pp755-783.

Wehmiller J. F. and Hare P. E. (1971) Racemization of amino acids in

marine sediments. *Science*, 73, 907-911.

Wehmiller J. F., York L. L. and Bart M. L. (1995) Amino acid racemization geochronology of reworked Quaternary mollusks on U.S. Atlantic coast beaches: implications for chronostratigraphy, taphonomy, and coastal sediment transport. *Mar. Geol.*, 124, 303-337.

Weiner S. and Hood L. (1975) Soluble protein of the organic matrix of mollusk shells; a potential template for shell formation. *Science*, 190, 987-989.

Weiner S., Lowenstam H. A. and Hood L. (1976) Characterization of 80-million year old mollusc shell proteins. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 73, 2541-2545.

Williams K. M. and Smith G. G. (1977) A critical evaluation of the application of amino acid racemization to geochronology and geothermometry. *Origins of life*, 8, 91-144.

Wu G., Yasuda M. K. and Berger W. H. (1991) Late Pleistocene carbonate stratigraphy on Ontong-Java Plateau in the western equatorial Pacific. *Mar. Geol.*, 99, 135-150.

Zhao M. and Bada J. L. (1989) Extraterrestrial amino acids in Cretaceous/Tertiary boundary sediments at Stevns Klint, Denmark.

Nature, 339, 463-465.

