

ノート

アスパラギン酸光学異性体比測定 による象牙及びマンモス牙の鑑定

古 賀 哲, 氏 原 覚*

Differentiation of Elephant tusk from Mammoth tusk by measuring their aspartic acid racemization ratio

Satoshi/KOGA and Satoru UJIHARA

Osaka Customs Laboratory

4-10-3, Chikkou, Minato-ku, Osaka-shi 552 Japan

Differentiation of Elephant tusk from Mammoth tusk is indispensable for Customs enforcement activities in respect of Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora at customs.

Differentiation methods for these tusks regarding to inorganic element content were reported.

Ratios between racemic isomers of aspartic acid contained by Elephant and Mammoth tusk were compared. N-(O)-TFA-isobutyl amino acid derivatives of these tusks were separated by GC using capillary column with dipentyl- β -cyclodextrin derivatized stationary phases. In $[1 + (D/L) / 1 - (D/L)]$ for aspartic acid of Elephant tusk was calculated at 0.040~0.097 and the other was calculated at 0.065~0.115.

It was appeared that aspartic acid racemization ratios between Elephant tusk and Mammoth tusk were not clearly distinguishable.

1. 緒 言

「絶滅のおそれのある野生動植物の種の国際取引に関する条約」により厳しく輸出入が規制されている象牙及び象牙製品は、プラスチックなどの模造品と偽って密輸入される事例が多々あり、中でもマンモスの牙と称して密輸入される場合は両者の鑑別は税関分析において非常に困難なことが多い。

象牙、マンモス牙両者の鑑別については、カルシウムストロンチウム含有比測定による蛍光 X 線法¹⁾、¹⁴C 含有比測定による年代推定²⁾ などが有力な分析手段となっており、無機成分中の微量元素に着目した方法が主体となっている。

近年、アミノ酸の光学異性体比を利用した年代推定法が、地質学、考古学の分野で注目され、さらには法医学分野においても数多くの研究報告^{3), 4), 5)}がある。

*大阪税関業務部分析部門 〒552 大阪市港区築港 4-10-3

著者らは、象牙とマンモス牙の鑑別に際し、有機成分に関連した研究事例が少ないことから、アミノ酸中のアスパラギン酸に注目し、光学異性体比を測定し、両者の鑑別に有力な手段となるか比較検討した。

2 実験

2.1 試料

象牙 (アフリカ象のもの)

マンモス牙 (シベリアマンモスのもの)

2.2 方法及び装置

2.2.1 試料前処理方法

Fig. 1 に示す通り、安部ら³⁾、荻野⁴⁾の方法に準じ行なった。それぞれの牙からナイフで約 50mg 削り取り、1 規定塩酸、水、エタノール及びジエチルエーテルの順に超音波洗浄した。乾燥後、減圧下分解管中 6 規定塩酸を用い沸騰水浴中で 6 時間加水分解し、分解物をロータリーエバポレーターで乾固させ水で再抽出した。抽出物を強酸性イオン交換樹脂に通し脱塩後、2 規定アンモニア水で溶出させてアミノ酸を回収した。

2.2.2 ガスクロマトグラフ用検体の誘導体化

Fig. 2 に示す通り、大谷の方法⁵⁾を参考とした。2.1 で得たアミノ酸を、減圧下分解管中イソブチルアルコール塩化アセチル混合液を用い沸騰水浴中で 3 時間エステル化した。エステル化後、無水トリフルオロ酢酸を用い室温で 10 分間 TFA 化した。反応物を乾固させ酢酸エチルで抽出したものを GC 用検体とした。

2.2.3 ガスクロマトグラフィー

装置；島津 GC-15A FID detector

演算装置；島津クロマトパック C-R4 A

カラム；Chiraldex B-DA ASTEC(USA)社製

20m×0.25mm I.D×0.125 μ film.

カラムオープン温度；150°C(3min)~6°C/min~

200°C(20min)

注入口温度；220°C

キャリアーガス；ヘリウム 0.97ml/min

スプリット比；106:1

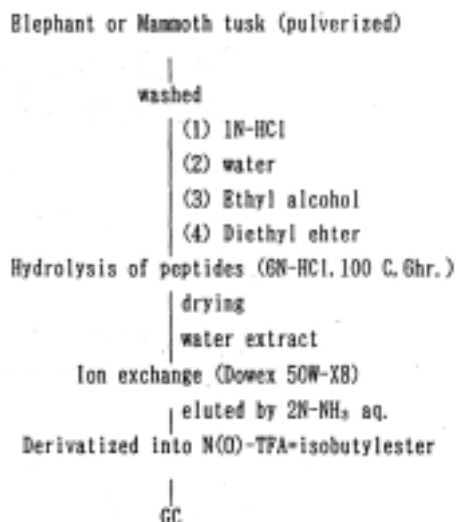


Fig. 1 Elephant or Mammoth tusk(pulverized)

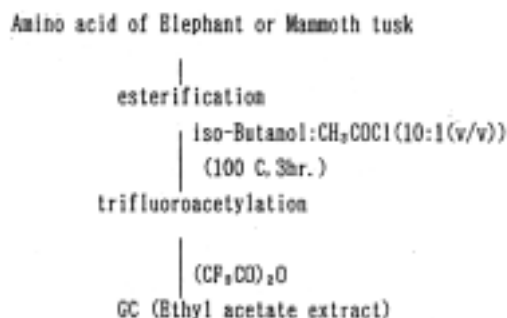


Fig. 2 Method of amino acid N (O)-TFA isobutyl ester derivatives

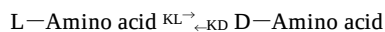
2.2.4 光学異性体比測定

GC により求めた L-及び D-体のアスパラギン酸誘導体のピーク面積比をもとにしてラセミ化反応速度式から年代指標となる $\ln \left[\frac{(1+D/L)}{(1-D/L)} \right]$ を象牙のものとマンモスのものとを比較検討した。

3 結果及び考察

3.1 アミノ酸のラセミ化反応³⁾と年代推定

アミノ酸のラセミ化は一般に可逆一次平衡反応であり、



で表される。K_L、K_Dはラセミ化反応速度定数であり、その速度式は、

$$-\frac{d[\text{L-Amino acid}]}{dt} = \frac{K_L[\text{L-Amino acid}]}{-K_D[\text{D-Amino acid}]}$$

となる。

[L-Amino acid], [D-Amino acid] は, L-及び D-体のアミノ酸の各濃度でありこの式を積分すると,

$$\ln \left[\frac{1 + (D/L)}{1 - K' (D/L)} \right]_t = \ln \left[\frac{1 + (D/L)}{1 - K' (D/L)} \right]_{t=0} + (1 + K') K_L t$$

$$K' = K_D / K_L$$

ここで, t は反応時間 (経過年数) で, K' の値はアスパラギン酸など分子中に一つの不斉炭素をもつアミノ酸に対して 1 となる。従って,

$$\ln \left[\frac{1 + (D/L)}{1 - (D/L)} \right] = \ln \left[\frac{1 + (D/L)}{1 - (D/L)} \right]_{t=0} + 2 K_L t$$

が成立する。なお分子中に二つの不斉炭素をもつアミノ酸素の場合は, $K_L > K_D$ または $K' < 1$ となる。

ラセミ化反応がごくわずかしか進んでいない場合即ち $L \gg D$ の条件下では D-アミノ酸からの逆反応は無視できるので, アミノ酸のラセミ化反応は不可逆一次反応として取り扱うことが可能である。ゆえに上式は,

$$\ln \left[\frac{1 + (D/L)}{1 - (D/L)} \right] = 2 K_L t + C$$

と単純な式で表わされる。

従って, アミノ酸ラセミ化反応の速度定数 K_L が求まるならば, 試料中のアミノ酸光学異性体比 (D/L) から試料年代 t が推定できる。

3. 2 GC 分離に際しての誘導体化の検討

GC 分離に用いたカラムは, 液相に β -シクロデキストリン- γ -n-ペンチルエーテルを使用したもので, 現在までに報告^{3), 4), 5)} 使用されているカラムとは異なることから, アミノ酸をエステル化誘導体とする時それぞれイソプロピルエステル化及びイソブチルエステル化したものをまず比較検討した。象牙アミノ酸のそれぞれのクロマトグラムを Fig. 3, Fig. 4 に示す。

イソブチルエステル化したクロマトグラムのほうが良好に成分分離しており, アスパラギン酸誘導体に相当するピークも他の成分ピークに全く影響を受けていないことがわかる。この結果からアスパラギン酸の光学異性体比測定には, イソブチルエステル化誘導体としガスクロマト分離することとした。マンモス牙アミ

ノ酸のクロマトグラムを Fig. 5 に示す。

3. 3 象牙及びマンモス牙の光学異性体比の比較

象牙及びマンモス牙に含まれるアスパラギン酸の D/L 比を GC のピーク面積から求めて, $\ln \left[(1 + D/L) / (1 - D/L) \right]$ として算出し比較した結果を Table. 1 に示す。

Table. 1 Character of enantiomer ratio of Tusk

	Elephant tusk	Mammoth tusk
A	0.040	0.065
B	0.052	0.085
C	0.066	0.112
D	0.049	0.073
E	0.081	0.075
F	0.055	0.133
G	0.083	0.090
H	0.097	0.155

マンモス牙のほうが 0.065~0.115 と僅かに高い値となったが象牙のものと重複する部分がほとんどであり, アスパラギン酸の光学異性体比には大きな差がないことが判明した。

ラセミ化率測定による年代推定法は, 同種の個体, 例えば人間の歯を検体として, それぞれ年齢既知のものからラセミ化率を測定して作成した検量線をもとに年齢不明の死者の歯から概ねの年齢を推定する³⁾ 等に利用されている。しかしまた, ラセミ化率は検体の保存条件等にも左右される³⁾ ことも知られており, このことから, 氷中保存のマンモス牙はラセミ化しにくく, 熱帯地方で密猟された象牙はラセミ化しやすいということが考えられる。

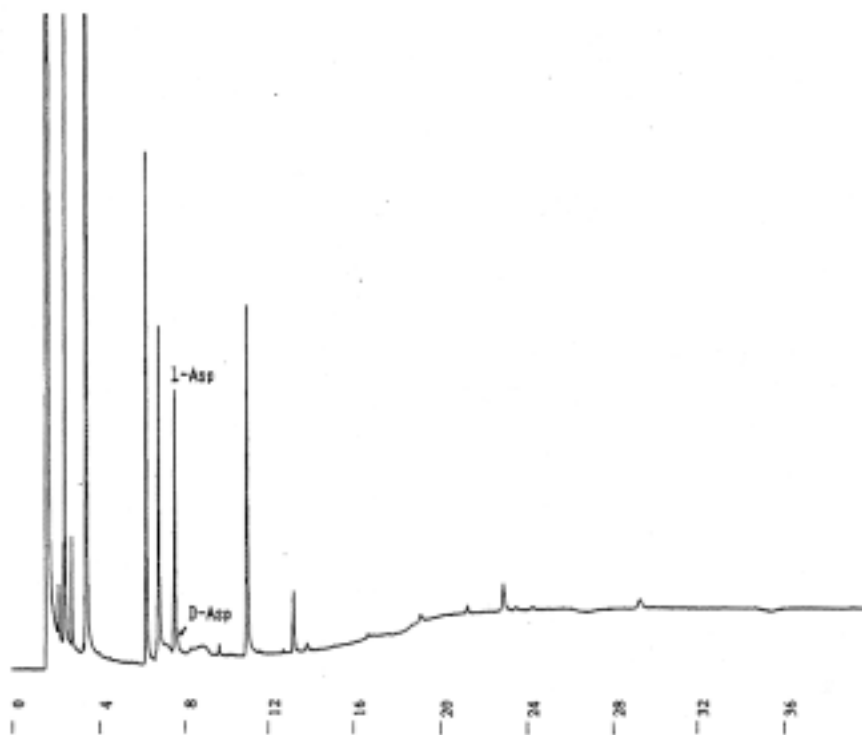


Fig. 3 Gas chromatogram of amino acid N(O)-TFA isobutyl ester derivatives prepared from Elephant tusk

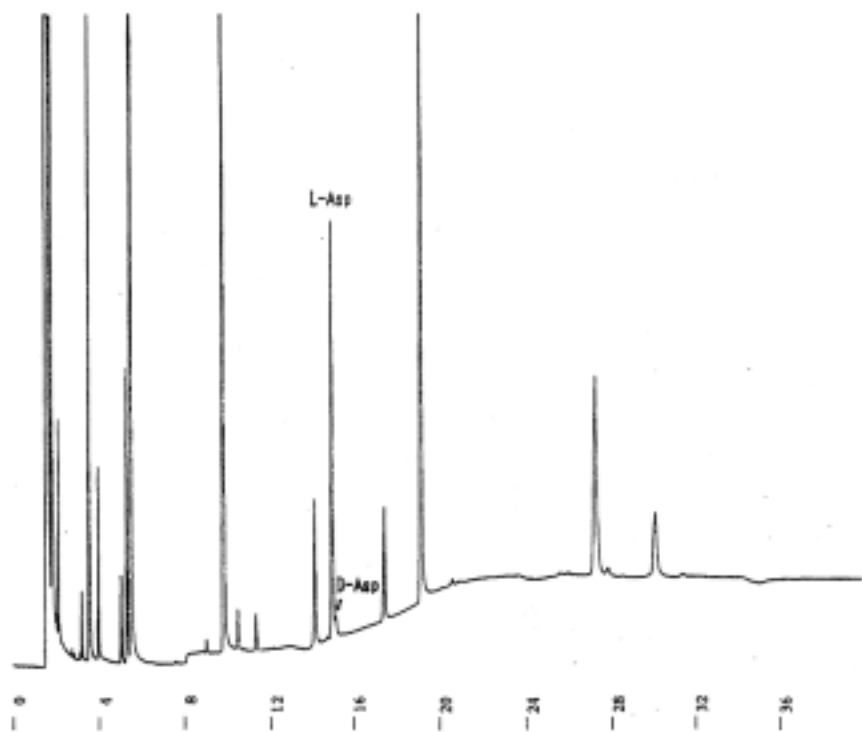


Fig. 4 Gas chromatogram of amino acid N(O)-TFA isobutyl ester derivatives prepared from Elephant tusk

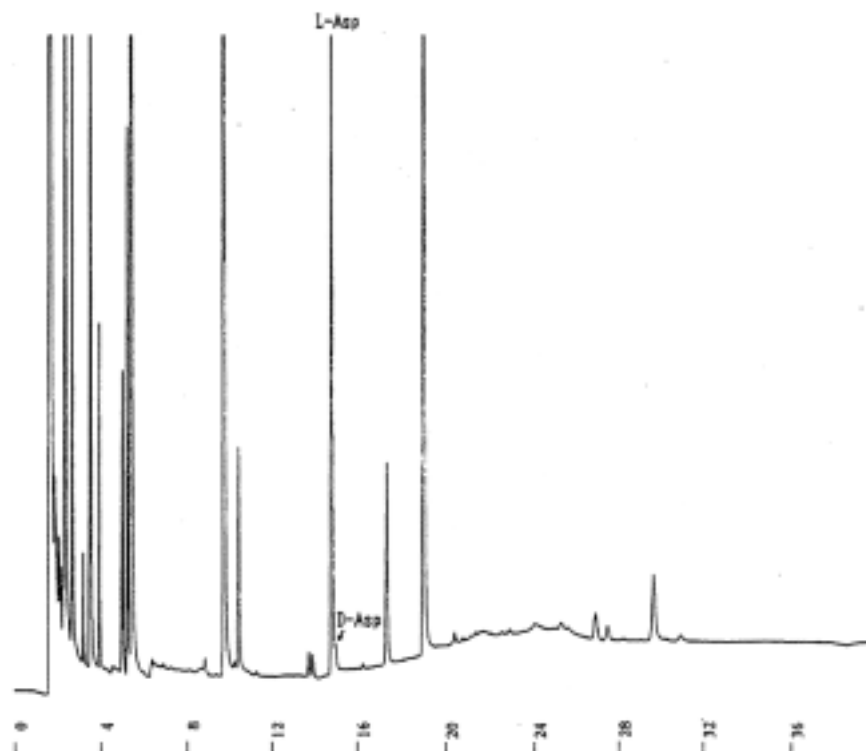


Fig. 5 Gas chromatogram of amino acid N(O)-TFA isobutyl ester derivatives prepared from Mammoth tusk

4 要 約

象牙及びマンモス牙の鑑別にあたり、両者に含有されるアミノ酸、特にアスパラギン酸の光学異性体に着目し、ガスクロマトグラフを利用して有力な鑑別法と

なるか検討した。

両者に含まれるアスパラギン酸光学異性体比から鑑別を行なった結果、ほぼ同程度のラセミ化率であり、象牙及びマンモス牙の判別は困難であった。

文 献

- (1) 佐藤宗衛, 堀内信雄, 山崎光廣, 西田良信: 宝石学会誌, Vol.16, No.1-2, 35 (1991)
- (2) 佐藤宗衛: 放射線科学, Vol.35, No.5, 145 (1992)
- (3) 安部 巖, 和泉圭二, 倉本成史, 武者宗一郎: 分析化学, Vol.30, 711 (1981)
- (4) 荻野 博, 保母敏行: ぶんせき, 7, 475 (1985)
- (5) 大谷 進: 化学警察研究所報告法科学編, Vol.40, No.4, 227 (1987)