〔有機地球化学会30周年記念事業 地球・環境有機分子検索マニュアル No.12〕

鮮新世海成珪質堆積岩中のΔ⁴,Δ⁵,Δ^{4,22},Δ^{5,22}ステレン類のGC/MS解析*

天羽美紀**・鈴木徳行** (2006年9月6日受付,2006年10月27日受理)

1. はじめに

ステロイド化合物は地質時代の堆積物において もその骨格が保存されていることから、堆積有機 物の起源や熱熟成の程度を知る上で有効なバイオ マーカーとして用いられている (e.g., Peters et al., 2005)。生体中のステロールは、初期続成作 用の過程で脱官能基が進みスタノールやステラジ エンを経てステレンに変化する。その後、ジアス テレン、ジアステラン、ステラン、芳香族ステロ イドなどに異性化を伴いながら変化する。最終的 にはクラッキングにより,その特徴的な構造を失 うと考えられている (e.g., de Leeuw and Baas, 1986; Peakman and Maxwell, 1988) △4,22 ステラジエンは、未熟成なモンテレー頁岩に おいて Δ⁴ および Δ⁵ ステレンとともに検出され るが、ジアステレンを含むようなさらに熟成の進 んだ試料には存在しない (Giger and Schaffner, 1981)。同様な報告は多くの海底堆積物の結果か らも得られている (e.g., Brassell et al., 1984; Brassell, 1985)。熟成が進むと水素添加により △22の飽和が生じる可能性があるが、いまのとこ ろ直接的な証拠はない。△22ステロイドに起こる 変化としては,酸化,ステロイド核のC環への 移動とC環一芳香環ステロイド炭化水素の形成 (Moldowan et al., 1986), C-22 や C-23 を経由 したケロジェンへの結合,硫黄に富んだ系におい てはステロイドチオフェンを形成する硫黄との相 互作用 (Sinninghe Damsté et al., 1989a, b) が 考えられる。このような堆積物中のステロイドの 変化やその起源を明らかにするためには,現世の 堆積物から熟成した堆積岩までの熟成度の異なる 試料を幅広く分析することが有効である。本報で は,北海道幌延地域から採取された珪藻起源の生 物源シリカに富んだ珪質堆積物(後期中新統一鮮 新統声問層)に含まれる C_{27} , C_{28} , C_{29} の Δ^4 およ び Δ^5 ステレンと $\Delta^{4,22}$ および $\Delta^{5,22}$ ステラジエン の分析方法とマススペクトルの解釈について報告 する。

2. 試料

北海道幌延地域から採取されたボーリングコア 試料 HDB-3 (コア長: 520 m) (Amo et al. submitted)の深さ 23.6 mの層準を分析に用いた。 試料は,後期中新統から鮮新統の声問層からなっ ていた。声問層は海洋性の珪質堆積岩として特徴 づけられ(福沢, 1985;嵯峨山, 2003),本研究 でも SiO₂, Al₂O₃, Fe₂O₃ 濃度はそれぞれ 70.0~ 86.1%, 5.8~11.8%, 2.4~4.4%で,珪藻殻に 由来する珪酸に富む珪質堆積岩であることが示唆 された。堆積岩試料は,凍結乾燥後に粉砕し, -30°Cで保存し,その後の分析に用いた。

3. 分析方法

ステレンとステラジエンの抽出・分離

抽出性有機物は, 堆積物粉末試料(5g)をメタ ノール/ジクロロメタン(3:1)20 ml, メタノー ル/ジクロロメタン(1:1)20 ml, ジクロロメタ

* GC/MS analysis of Δ^4 -, Δ^5 -, $\Delta^{4,22}$ -, $\Delta^{5,22}$ - sterenes in Pliocene diatomaceous sediments of Koetoi Formation, Hokkaido.

**北海道大学大学院理学研究院自然史科学部門,〒060-0810 札幌市北区北10条西8丁目
 Miki Amo, Noriyuki Suzuki: Department of Natural History Sciences, Faculty of Science, Hokkaido University, N10 W8, Kita-ku, Sapporo, 060-0810, Japan.

ン 20 ml でそれぞれ一回ずつ超音波抽出を行っ た。抽出物はロータリーエヴァポレーターを用い て乾固した。得られた抽出物を 0.5M 水酸化カリ ウム・メタノール溶液を用いて 80°C で 3 時間還 流してケン化を行った。その後,蒸留水を添加し, ヘキサン/ジエチルエーテル (9:1) で 3 回抽出 することにより中性フラクションを得た。中性フ ラクションをシリカゲルカラムクロマトグラフ ィー (45 mm 長, 6 mm 内径, 5% H₂O) によっ て以下の 4 つのフラクションに分画した。溶出液 の順序はヘキサン 3 ml (F1 フラクション), トルエン 4 ml (F3 フラクション), トルエン/メ タノール (3:1) 3 ml (F4 フラクション) である。 F1 フラクションをその後の分析に供した。

ガスクロマトグラフィー質量分析 (GC/MS)

F1 フラクションをヘキサン溶媒中に溶解し, Agilent 6890 ガスクロマトグラフ・5975 質量検 出器計 (スプリットレス導入部, HP-5MS (30 m 長, 0.25 mm 内径, 0.25 μ m 膜厚) キャピラリー カラム) に導入して分析した。オーブン温度は 50°C で 4 分保持し, 300°C まで 4°C/分で昇温し た後, 300°C で 20 分間保持した。キャリアガス は高純度ヘリウムを用いた。質量分析計は全イオ ンスキャンモード (m/z 50-550), イオン化電圧 は 70eV で行った。 Pseudo-Kovats 保持指数は各ステレンおよびス テラジエンの保持時間の前後に検出される n-ア ルカンの保持時間から求めた。Pseudo-Kovats retention index (I) は以下の式を用いて求めた。

 $I = 100 |(t_A - t_Z) / (t_{Z+1} - t_Z) + Z|$ t_A:測定対象化合物の保持時間, t_Z:対象化合物 の直前に検出される *n*-アルカンの保持時間, t_{Z+1} :対象化合物の直後に検出される *n*-アルカンの 保持時間, Z:対象化合物の直前に検出される *n*-アルカンの炭素数。また,保持指数測定のGC の昇温条件は, 4°C/分で行った。

4. 結 果

ステレンおよびステラジエンは,GC/MS で分 析を行った。GC/MS のガスクロマトグラム(イ オンクロマトグラム)と特徴的なフラグメントイ オンのフラグメントグラムを Fig. 1 に示す。同 定された化合物の名称を Table 1 に,質量スペク トルと構造式を Fig. 2 に示す。

ステレン

ステレンは C₂₇~C₂₉のステレンが検出された (Fig. 1 およびTable 1 のピーク番号 3, 4, 7, 8, 11, 12)。ステレンの同定は GC/MS による質量 スペクトルを Rhead et al. (1971) と Peakman et al. (1992) と比較して行った。フラグメント イオン M-15 はメチル基 (CH₃)の脱離する [M-

Peak	Compound name	Formula	Molecular weight	Retention index (I)**	Diagnostic fragmentation (m/z)	Identification level***		Deference
no.*	Compound name					This study	Reference	Kelefelice
1	cholest-4,22-diene	C27H44	368	2795	353, 284, 257, 215	2	1	Wyllie and Djerassi, 1968; Giger and Schaffner, 1981
2	cholest-5,22-diene	C27H44	368	2806	353, 284, 257, 215	2	1	Wyllie and Djerassi, 1968; Giger and Schaffner, 1981
3	cholest-4-ene	C27H46	370	2831	355, 257, 215, 108	2	3	Rhead et al., 1971; Peakman et al., 1992
4	cholest-5-ene	C27H46	370	2842	355, 301, 275, 257, 215	2	3	Rhead et al., 1971; Peakman et al., 1992
5	24-methylcholest-4,22-diene	C28H46	382	2876	367, 284, 257, 215	2	1	Wyllie and Djerassi, 1968; Giger and Schaffner, 1981
6	24-methylcholest-5,22-diene	C28H46	382	2887	367, 284, 257, 215	2	1	Wyllie and Djerassi, 1968; Giger and Schaffner, 1981
7	24-methylcholest-4-ene	C28H48	384	2938	369, 257, 215, 108	2	1	Peakman et al., 1992
8	24-methylcholest-5-ene	C28H48	384	2949	369, 315, 289, 257, 215	2	1	Peakman et al., 1992
9	24-ethylcholest-4,22-diene	C29H48	396	2974	381, 284, 257, 215	2	1	Wyllie and Djerassi, 1968; Giger and Schaffner, 1981
10	24-ethylcholest-5,22-diene	C29H48	396	2979	381, 284, 257, 215	2	1	Wyllie and Djerassi, 1968; Giger and Schaffner, 1981
11	24-ethylcholest-4-ene	C29H50	398	3031	383, 257, 215, 108	2	1	Peakman et al., 1992
12	24-ethylcholest-5-ene	C29H50	398	3043	383, 329, 303, 257, 215	2	1	Peakman et al., 1992

Table 1. Identification of sterenes and steradienes.

*Peak numbers refer to the chromatogram in Fig. 1.

**Retention index was measured by GC/MS analysis using a HP-5MS column.

***Identification level;

1: Interpretation of mass spectrum data.

2: The mass spectrum and GC retention time are identical to those in references.

3: The mass spectrum is identical to that of authentic standard.



Fig. 1. (a) Total ion chromatogram, (b) Fragmentgrams at m/z 257 of the F1 fraction from HDB-3. 1-12: Compound names are given in Table 1.

CH₃]⁺であり, *m*/*z* 257 は側鎖の脱離した A-D 環核 C₁₉H₂₉⁺であり, *m*/*z* 215 は側鎖と D 環の脱 離した ABC 環 C₁₆H₂₃⁺である。 Δ^4 ステレンは *m*/*z* 108 の転位イオンを持ち, Δ^5 ステレンは, M-69 と M-95 のフラグメントイオンを特徴的に 持つので, Δ^4 ステレンと Δ^5 ステレンを区別する ことができる。M-69 と M-95 のフラグメントイ オンはいくつかの可能な開裂パターンが提案され ているが,最も有力なものは重水素でラベルした cholesterol を用いた研究によって提案された開 裂パターンで (Wyllie et al., 1977), M-69 は AB 環 の C1-C10 間, C5-C6 間の開 裂によるもので, M-95 は AB 環の C1-C10 間, C5-C10 間, C7-C8 間の開裂によるものと考えられる。

ステラジエン

ステラジエンは $C_{27} \sim C_{29}$ のステラジエンが検 出された (Fig. 1 および Table 1 のピーク番号 1, 2, 5, 6, 9, 10)。ステラジエンの同定は GC/MS による保持時間と質量スペクトルを Giger and Schaffner (1981) とWyllie and Djerassi (1968) と比較して行った。検出された ステラジエンは環状構造と側鎖部にそれぞれ一つ



Fig. 2. Mass spectra of sterenes and steradiens. 1-12: Compound names are given in Table 1.

ずつ二重結合を持つ化合物 $\Delta^{4.22}$ および $\Delta^{5.22}$ ステ ラジエンで, m/z 255 をベースピークに持つ環状 構造内に二つの二重結合を持つステラジエンは検 出されなかった。ステラジエンもステレンと同様 に, フラグメントイオン M-15 はメチル基 (CH₃) の脱離する $[M- CH_3]^+$ であり, m/z 257 は側鎖 の脱離した A-D 環核 $C_{19}H_{29}^+$ であり, m/z 215 は側鎖と D 環の脱離した ABC 環 $C_{16}H_{23}^+$ である。 また,ステラジエンは二重結合を二つ持つため,同 じ炭素数のステレンよりも分子量が 2 ダルトン小





さい。m/z 257 を持つことから環状構造内には二 重結合が一つしか存在していないことを示し、フ ラグメントイオンm/z 284 は C20-C22 間の開裂 によるもので、 Δ^{22} 二重結合が存在していること を示している。

5. 謝辞

本研究に用いたボーリングコア試料は,独立行 政法人日本原子力研究開発機構地層処分研究開発 部門幌延深地層研究ユニットにご提供頂きました。



Fig. 2. (continued)

本研究の遂行に当たり北海道大学大学院沢田健講 師には貴重なご助言を頂きました。また,本論文 を査読頂いた北海道大学大学院山本正伸助教授お よび岡山大学奈良岡浩教授からは論文を改訂する 上で有用なコメントを多数頂きました。本研究は 文部科学省21世紀 COE プログラム新・自然史 科学創成(プログラムリーダー岡田尚武)の助成 によって行われました。記して感謝致します。

引用文献

- Amo, M., Suzuki, N., Shinoda, T. Ratnayake, N. P. and Takahashi, K. Diagenesis and distribution of sterenes in Late Miocene to Pliocene Horonobe marine siliceous rocks, Hokkaido, Japan. Submitted to Organic Geochemistry.
- Brassell, S. C., McEvoy, J., Hoffmann, C. F., Lamb, N. A., Peakman, T. M. and Maxwell, J. R. (1984) Isomerization, rearrangement and aromatization of steroids in distinguishing early stages and diagenesis. In: Schenck, P. A., de Leeuw, J. W. and Lijmbach, G. M. W. (Eds.), Advances in Organic Geochemistry 1983, Org. Geochem., 6, Pergamon, Oxford, pp. 11-23.
- Brassell, S. C. (1985) Molecular changes in sediment lipids as indicators of systematic early diagenesis. *Phil. Trans. Roy. Soc. Lond. A*, 315, 57-75.
- 福沢仁之(1985) 北海道天北-羽幌地域の上部新 第三系層序の再検討-とくに"稚内"・"声問" 層について-。地質学雑誌,91,833-849.
- Giger, W. and Schaffner, C. (1981) Unsaturated steroid hydrocarbons as indicators of diagenesis in immature Monterey shales. *Naturwissenschaften*, **68**, 37-39.
- de Leeuw, J. W. and Baas, M. (1986) Earlystage diagenesis of steroids. In: Johns, R.
 B. (Ed.), *Biological Markers in the Sedimentary Record*. Elsevier, Amsterdam, pp. 101-123.
- Moldwan, J. M., Sundararaman, P. and Schoell, M. (1986) Sensitivity of biomarker properties to depositional environment and/or source input in the Lower Toarcian of SW-Germany. In: Leythaeuser, D. and Rullkotter, J. (Eds.), Advances in Organic Geochemistry 1985, Org. Geochem. 10, Pergamon, Oxford, pp. 915-926.
- Peakman, T. M. and Maxwell, J. R. (1988) Acid-catalysed rearrangements of steroid

alkenes. Part 1. Rearrangement of 5α-Cholest-7-ene J. CHEM. SOC. PERKIN TRANS. I, 1065-1070.

- Peakman, T. M., de Leeuw, J. W. and Rijpstra, W. I. C. (1992) Identification and origin of $\Delta^{8(14)}$ 5 α - and Δ^{14} 5 α -sterenes and related hydrocarbons in an immature bitumen from the Monterey Formation, California. *Geochimica Cosmochimica Acta*, **56**, 1223-1230.
- Peters, K. E., Walters, C. C. and Moldwan, J. M. (2005) *The Biomarker Guide. Second Edition*, Cambridge, UK, 1155p.
- Rhead, M. M., Eglinton, G. and Draffan, G. H. (1971) Hydrocarbons produced by the thermal alteration of cholesterol under conditions simulating the maturation of sediments. *Chemical Geology*, 8, 277-297.
- 嵯峨山積(2003)北海道北部地域の遠別層・声問 層と勇知層の地質境界の地質年代ールベシュベ 川と上ヌカナン川ルートー。地質学雑誌,109, 310-323.
- Sinninghe Damsté, J. S., Eglinton, T. I., de Leeuw, J. W. and Schenck, P. A. (1989a) Organic sulphur in macromolecular sedimentary organic matter: I. Structure and origin of sulphur-containing moieties in kerogen, asphaltenes and coals as revealed by flash pyrolysis. *Geochimica Cosmochimica Acta*, 53, 873-889.
- Sinninghe Damsté, J. S., Rijpstra, W. I. C., de Leeuw, J. W. and Schenck, P. A. (1989b) The occurrence and identification of organic sulphur compounds in oils and sediment extracts: II. Their presence in samples from hypersaline and non-hypersaline palaeoenvironments and possible application as sources, palaeoenvironemental and maturity indicators. *Geochimica Cosmochimica Acta*, 53, 1323-1341.
- Wyllie, S. G. and Djerassi, C. (1968) Mass spectrometry in structural and stereochemical problems. CXLVI. Mass spectrometric frag-

mentations typical of sterols with unsaturated side chains. *The Journal of Organic Chemistry*, **33**, 305-313.

Wyllie, S. G., Amos, B. A. and Tokes, L. (1977) Electron impact induced fragmentation of cholesterol and related C-5 unsaturated steroids. *The Journal of Organic Chemistry*, **42**, 725-732.