

## 中国青海湖堆積物中の高分枝イソプレノイド炭化水素： 2 および 3 不飽和 C<sub>25</sub>HBI の GC/MS による解析\*

荻原成騎\*\*

(2007 年 5 月 23 日受付, 2007 年 7 月 16 日受理)

### 1. はじめに

C<sub>25</sub> highly branched isoprenoid (HBI) は、地質試料および現世の海洋堆積物や海水、陸水から広く検出される (Rowland and Robson, 1990)。また、*Haslea ostrearia* から特徴的に抽出されていることから、珪藻起源のバイオマーカーとして有効である (Johns et al., 1999)。近年 GC/MS と NMR を組み合わせた分析によって、C<sub>25</sub>HBI の 3 から 5 不飽和、C<sub>30</sub>HBI の 5 および 6 不飽和の二重結合の位置が決定された (Belt et al., 2000, Belt et al., 2001)。これらの研究結果を参照して、荻原 (2004) は、深海堆積物から検出された C<sub>25</sub>HBI (4 および 5 不飽和) および C<sub>30</sub>HBI (5 および 6 不飽和) を報告した。本論では、中国青海湖堆積物から検出された C<sub>25</sub>HBI (2 および 3 不飽和) について、GC/MS 解析結果を報告する。

### 2. 試料

本研究に用いた試料は、青海湖 (チンハイフー) のピストンコア試料である。青海湖は中国チベット高原北東部、標高 3199 m に位置し、周囲は約 360 km、面積 4635 km<sup>2</sup> (琵琶湖の 6 倍の広さ) を持つ中国最大の内水塩湖である。塩濃度は 1.42% であり、周囲から大小 23 の河川が流入する。主な流入河川は石灰岩と砂岩を後背地を持つ。3 万 6 千～1 万 5 千年前に生じた湖東部の隆起により、湖は閉じて終端湖となった。現在は流出河川がな

く、湖水の滞留時間は長い。また、冬季に湖面は凍結する。湖水は平均水深約 19 m、最大水深 28 m、蓄水量 1050 億 m<sup>3</sup> である。周辺の気候は冷涼で乾燥しており、植生は主に背の低い草類から成る。研究に用いた試料は、青海湖東部湖心、湖岸からの距離 11 km の地点 (36° 36.88′ N, 100° 34.32′ E) から採取したピストンコアである。

### 3. 分析方法

乾燥した試料 2 g を 50 ml テフロン製遠沈管に測り取り、40 ml の溶媒 (ジクロロメタン：メタノール/93:7) を加えた。これを超音波洗浄器中にて 60 分間抽出した後、遠心分離を行った。抽出溶媒はナスフラスコに移した。抽出操作は 3 回繰り返した。ナスフラスコに集めた抽出溶媒は、ロータリーエバポレーターおよび窒素ガス気流下にて濃縮した。得られたビチューメンは、シリカゲルカラムクロマトグラフィーによって、脂肪族炭化水素画分 (N-1)、多環芳香族炭化水素画分 (N-2)、極性画分に分画した。カラムにはパスツールピベットを用い、3 wt% H<sub>2</sub>O に調整したメルク社製シリカゲル (grade 10180, 70-230 mesh) を用いた。炭化水素画分はヘキサン 4 ml を用いて分画した。

GC/MS 測定には ThermoQuest 社製 Voyager を使用した。試料はオンカラム注入法、使用カラムは HP-5 MS (内径 0.25 mm, 長さ 30 m, 膜厚 0.25 μm) であった。GC 昇温条件は 40℃ で 1 分保持

\*Highly branched isoprenoid hydrocarbons in the sediment of Lake Qinhai, central China:GC/MS analysis of C<sub>25</sub> HBIs with two and three double bonds.

\*\*東京大学大学院理学系研究科地球惑星科学専攻, 〒113-0033 東京都文京区本郷 7-3-1 東京大学理学部 1 号館 e-mail; ogi@eps.s.u-tokyo.ac.jp, Tel: 03-5841-4524, Fax 03-5841-4555

Shigenori Ogihara: Department of Earth and Planetary Science, Graduate School of Science, The University of Tokyo

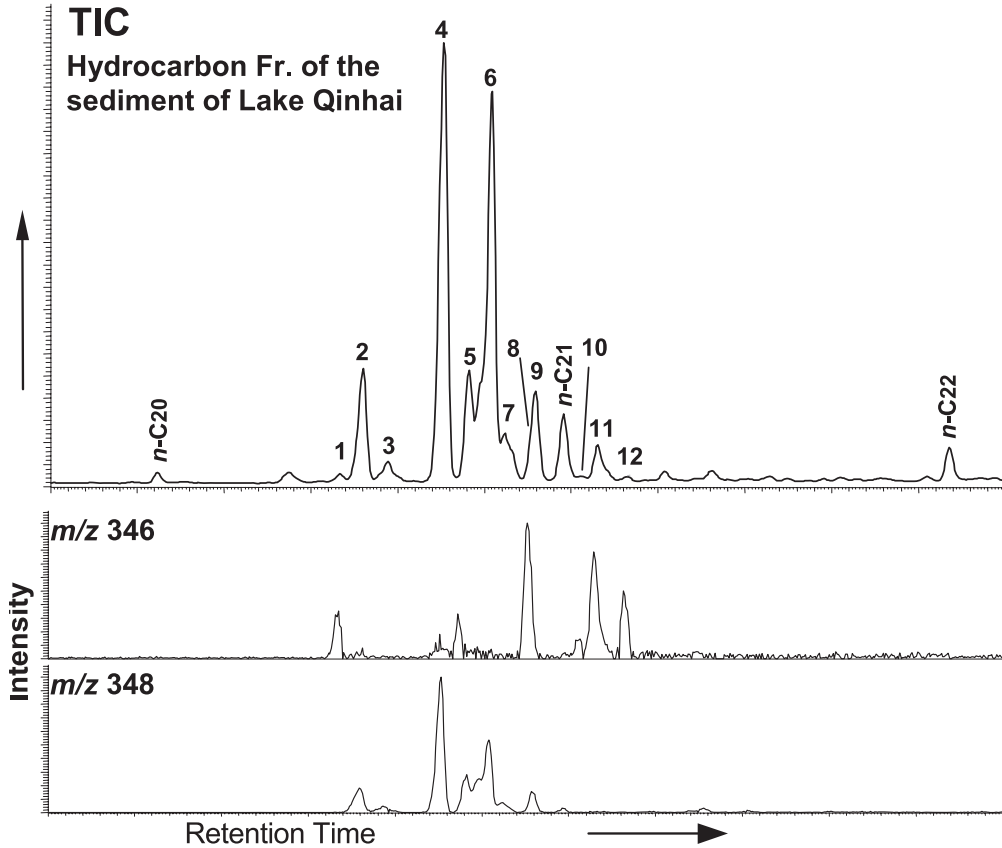


Fig. 1. Total ion chromatogram and  $m/z$  346 and 348 mass chromatograms of hydrocarbon fraction isolated from the sediment of Lake Qinhai.

し、4℃/分で300℃まで昇温した後、30分保持した。質量分析計は全イオンスキャンモード ( $m/z$  50-520)、イオン化電圧は70 eVに設定した。

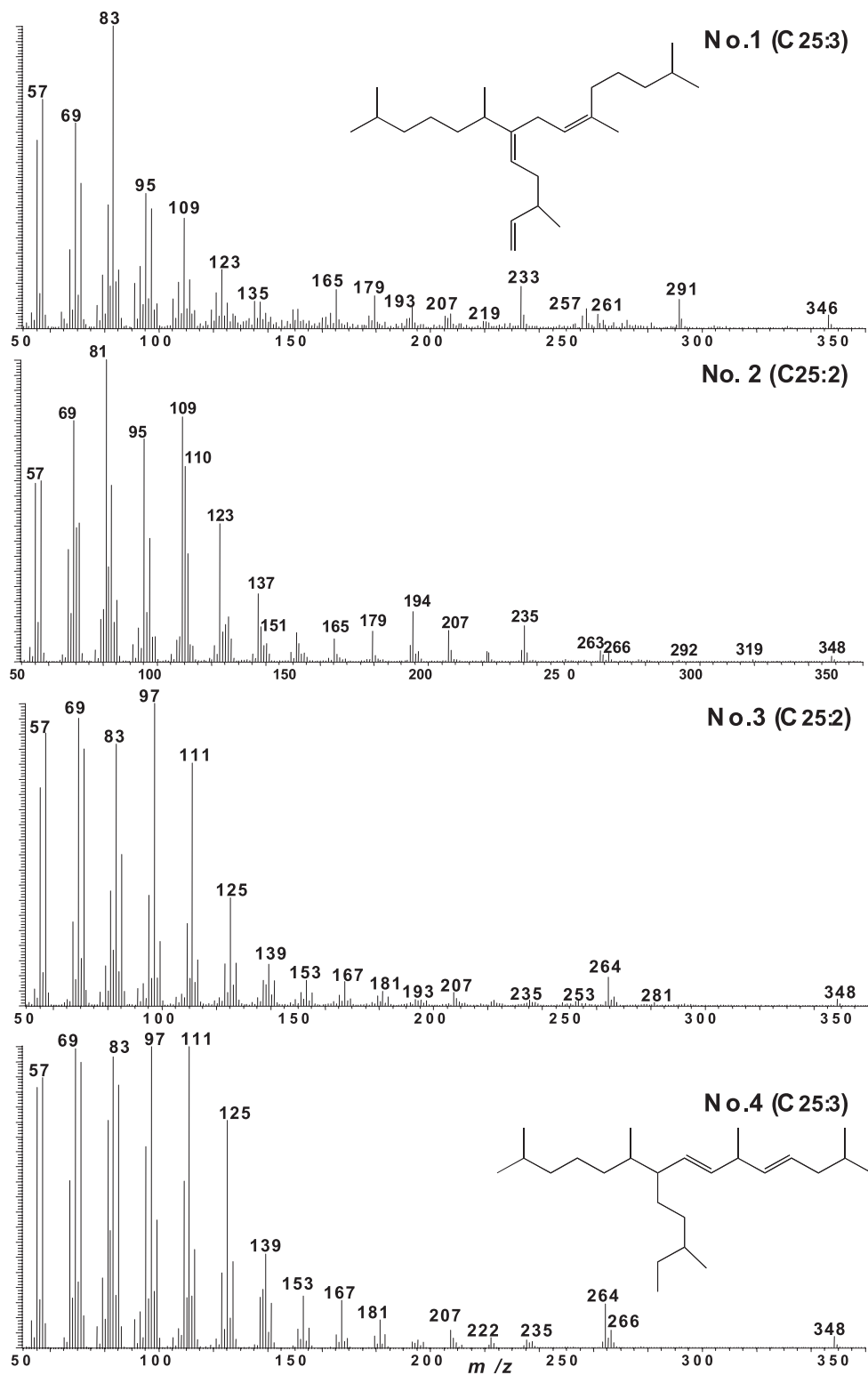
GC/MS分析には、内部標準として  $n\text{-C}_{24}\text{D}_{50}$  を添加した。また、 $\text{C}_{13}$  から  $\text{C}_{33}$  までの  $n$ -アルカン混合試料に  $n\text{-C}_{24}\text{D}_{50}$  を添加して同条件で分析を行った。GC保持指数 (Retention Index) は、各HBIの保持時間の前後に溶出する  $n$ -アルカンの保持時間を比例配分して求めた。すなわち、保持指数 = [HBIの直前に湧出する  $n$ -アルカンの炭素数 + (HBIの保持時間 - 直前に湧出する  $n$ -アルカンの保持時間) / (HBIの直後に湧出する  $n$ -アルカンの保持時間 - 直前に湧出する  $n$ -アルカンの保持時間)]  $\times 100$  である。また、HBI保持指数測定のGC条件は、4℃/分で昇温であった。

#### 4. 結果

Fig. 1に炭化水素画分の分析結果 (トータルイオンクロマトグラムと2および3不飽和  $\text{C}_{25}$ HBIの分子イオンである  $m/z$  346と348マスプロマトグラム)を示す。分析結果からは、12種類の不飽和  $\text{C}_{25}$ HBI (2不飽和7種および3不飽和5種)が検出された。Fig. 2に検出した  $\text{C}_{25}$ HBIのガスクロマトグラム上のピーク番号、マススペクトルおよび構造を示した。また、保持指標、文献値との比較、文献データと共通した特徴的なフラグメントイオンをTable 1に示した。

##### 4.1. 2不飽和 $\text{C}_{25}$ HBI

Fig. 1のGCピーク4は、Yruela et al. (1990)がマススペクトルから構造決定した2不飽和  $\text{C}_{25}$ HBI (Peak T)のマススペクトルと一致する。この



**Fig. 2.** Mass spectra of C<sub>25</sub> highly branched alkenes with two and three double bonds. Compound names given in Table 1.

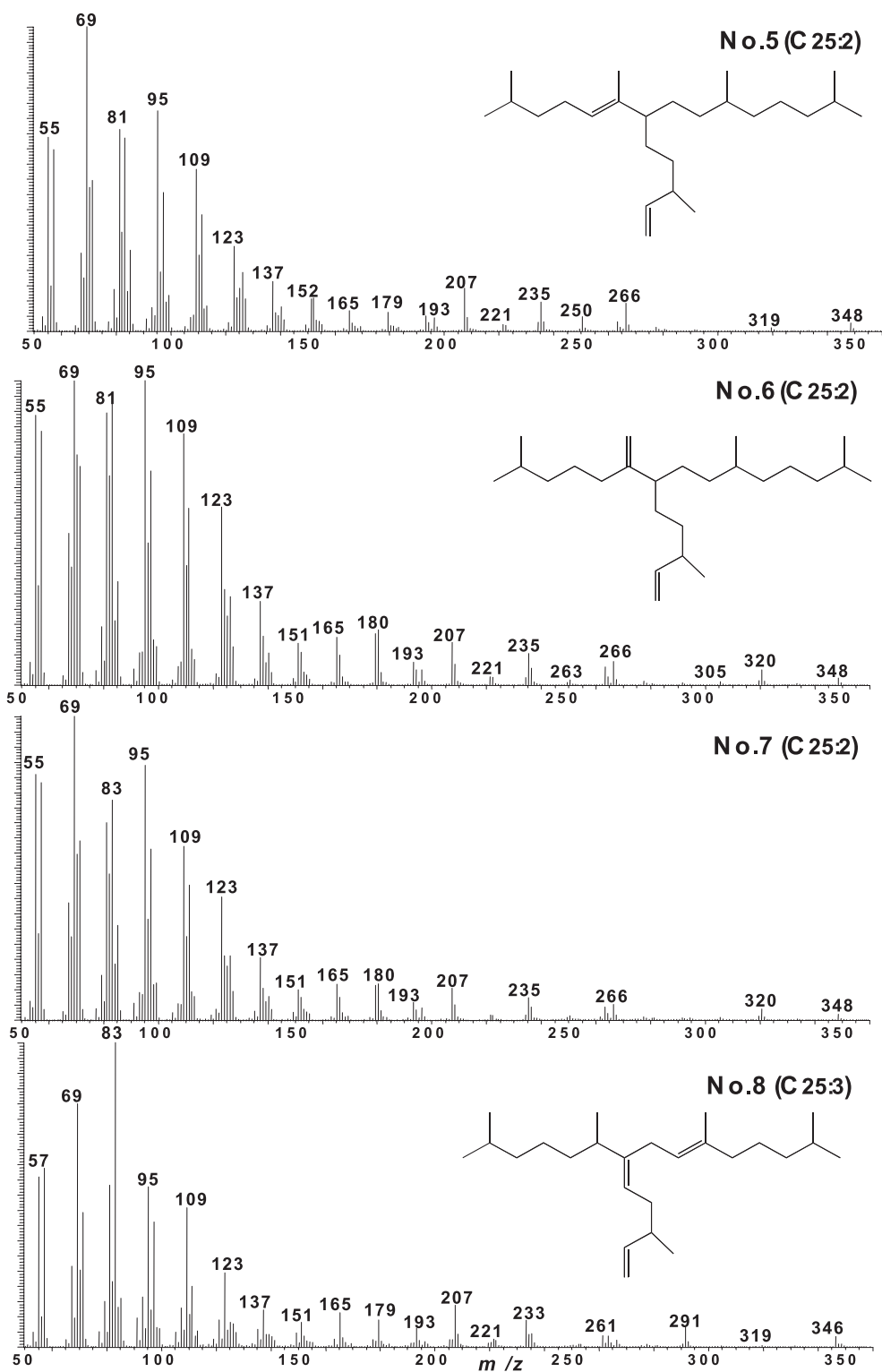


Fig. 2. (continued)

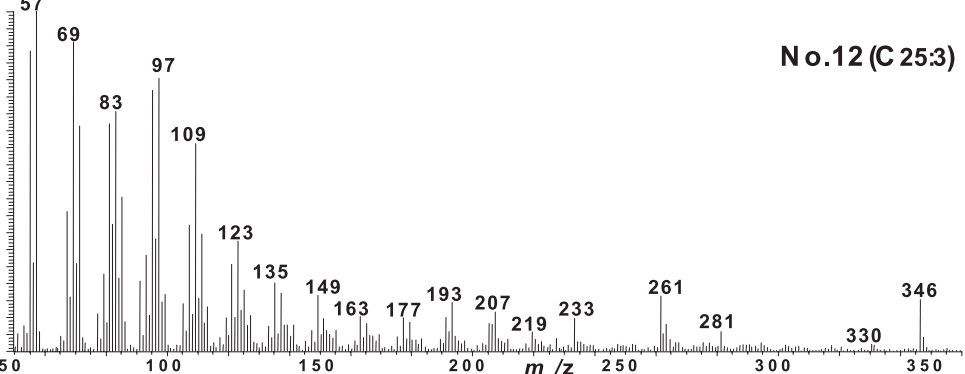
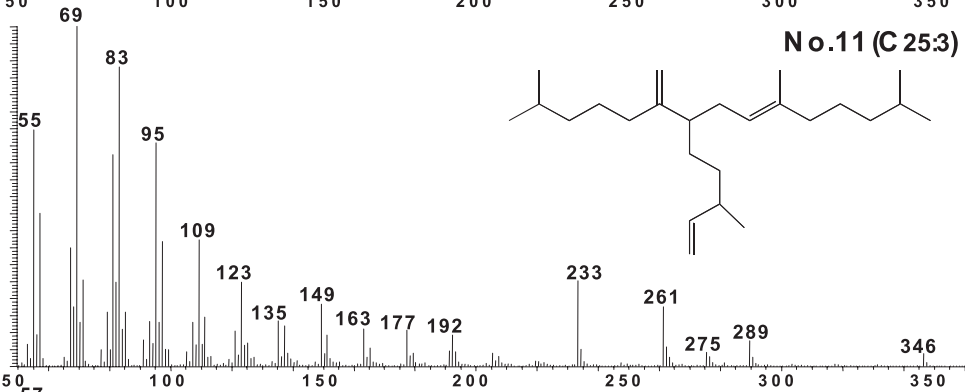
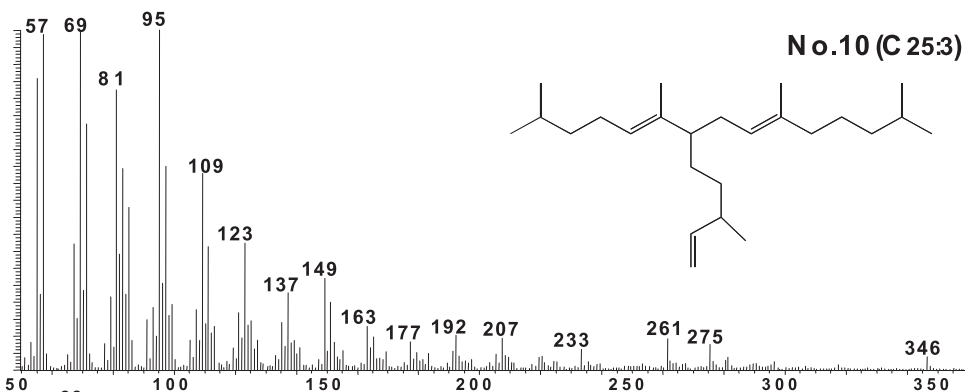
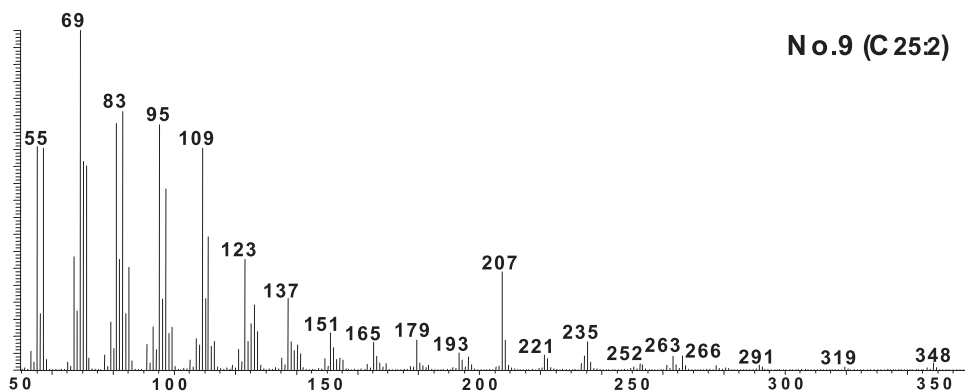


Fig. 2. (continued)

**Table 1.** Identification of C<sub>25</sub>HBI.

Peak No.	Compound	Formula	M.W.	Retention This study	Index Reference	Base peak ( <i>m/z</i> )	Diagnostic fragments ( <i>m/z</i> )	Identification level*		Mark in reference	Reference Paper
								This study	Reference		
1	(5 E, 8 Z)-3,9,13-trimethyl-6-(1,5-dimethylhexyl)tetradeca-1,5,8-triene	C <sub>25</sub> H <sub>46</sub> (C <sub>25:3</sub> )	346	2045	2044 (HP-5 MS)	83	233 261 291 346	2	4	XIII	Belt <i>et al.</i> (2000)
4	3,9,13-trimethyl-6-(1,5-dimethylhexyl)tetradeca-7,10-diene	C <sub>25</sub> H <sub>48</sub> (C <sub>25:2</sub> )	348	2071	2085 (CP-Sil 8 CB)	57 (97)	167 222 264 348	1	3	Peak T	Yruela <i>et al.</i> (1990)
5	3,9,13-trimethyl-6-(1,5-dimethylhexyl)tetradeca-1-ene	C <sub>25</sub> H <sub>48</sub> (C <sub>25:2</sub> )	348	2077	2074 (HP-5 MS)	69	235 250 266 348	2	4	C <sub>25:2a</sub>	Grossi <i>et al.</i> (2004)
6	3,9,13-trimethyl-6-(1-methylene-5-methylhexyl)tetradeca-1-ene	C <sub>25</sub> H <sub>48</sub> (C <sub>25:2</sub> )	348	2083	2080 & 2084 (Carbowax)	55 (69)	180 266 320 348	2	4	XI	Johns <i>et al.</i> (1999)
8	(5 E, 8 E)-3,9,13-trimethyl-6-(1,5-dimethylhexyl)tetradeca-1,5,8-triene	C <sub>25</sub> H <sub>46</sub> (C <sub>25:3</sub> )	346	2092	2091 (HP-5 MS)	83	233 261 291 346	2	4	XIV	Belt <i>et al.</i> (2000)
10	3,9,13-trimethyl-6-(1,5-dimethylhexyl)tetradeca-1,8-diene	C <sub>25</sub> H <sub>46</sub> (C <sub>25:3</sub> )	346	2105	2103 (HP-5 MS)	95	233 261 275 346	2	4	V	Belt <i>et al.</i> (2000)
11	3,9,13-trimethyl-6-(1-methylene-5-methylhexyl)tetradeca-1,8-diene	C <sub>25</sub> H <sub>46</sub> (C <sub>25:3</sub> )	346	2109	2106 (HP-5 MS)	69	261 275 289 346	2	4	VI	Belt <i>et al.</i> (2000)

Peak numbers refer to the chromatogram in Fig. 1.

- \*1. The mass spectrum is identical to that was reported in reference.
- \*2. The mass spectrum and GC retention index are identical to those in reference.
- \*3. Interpretation of mass spectrum.
- \*4. Interpretation of mass spectrum and NMR spectrum.

2 不飽和 C<sub>25</sub>HBI は Johns *et al.* (1999) の III に相当する。この化合物のマススペクトルの特徴は、分子イオン *m/z* 348, 特徴的フラグメントイオンとして強い 264 が検出され、167, 207, 235 が認められる。これに対して、保持指標は、Yruela *et al.* (1990) では 2085 (CP-Sil 8 CB: 6°C/min 昇温) であり、本研究の GC ピーク 4 の 2071 (HP-5 MS: 4°C/min 昇温) と比較すると、GC ピーク 4 の保持指標が小さいが、カラム、昇温条件の差異に起因する差と推定し、GC ピーク 4 は、Yruela *et al.* (1990) が解析した 2 不飽和 C<sub>25</sub>HBI, 即ち Johns *et al.* (1999) の III と認定した。

GC ピーク 5 は、Grossi *et al.* (2004) によるマススペクトルおよび NMR スペクトルによって同定した C<sub>25:2</sub> (2) と一致する。マススペクトルは分子イオン *m/z* 348, ベースイオン 69, 特徴的フラグメントイオンとして 207, 235, 266 および 250 が検出された。保持指標は、Grossi *et al.* (2004) によると 2072 (Solgel-1) および 2074 (HP-5 MS) であり、本研究では 2077 (HP-5 MS: 4°C/min 昇温) である。

GC ピーク 6 は、Johns *et al.* (1999) によるマススペクトル解析によって同定した XI と一致する。この解析結果は Sinninghe Damsté *et al.* (2007) によって確認されている。この化合物のマススペクトルの特徴は、分子イオン *m/z* 348, メテンの離脱による 320 が特徴的フラグメントイオンであり、その他の特徴的フラグメントイオンは 266,

235, 207, 180 である。Johns *et al.* (1999) では、GC カラムについて無極性カラム (HP-1) を使用した場合にはシングルピークが得られたが、極性カラムを使用した場合にはダブルピークとなることを指摘した。この時のダブルピークの保持指標は、2080 と 2804 (Carbowax: 6°C/min 昇温) である。また、Xu *et al.* (2006) ではシングルピークについて 2082 (DB-1: 3°C/min 昇温) を報告しており、本研究の 2083 (HP-5 MS: 4°C/min 昇温) は、これらの研究とほぼ一致する。

GC ピーク 2, 3, 7 および 9 は、分子イオン *m/z* 348 から 2 不飽和 C<sub>25</sub>HBI であるが、これまでの研究で報告されているマススペクトルに該当しない。

#### 4.2. 3 不飽和 C<sub>25</sub>HBI

3 不飽和 C<sub>25</sub>HBI の構造は、Belt *et al.* (2000) がマススペクトルと NMR スペクトルによって構造を決定した研究と比較した。

GC ピーク 1 は Belt *et al.* (2000) の XIII とよく一致する。分子イオン *m/z* 346, ベースイオン 83, 特徴的フラグメントイオンは、233, 291, 261, 165 である。また、GC ピーク 1 で検出されたフラグメント 257 は、Belt *et al.* (2000) の XIII では見られないことから、この HBI 起源のフラグメントではないと考えられる。保持指標は、Belt *et al.* (2000) では 2044 (HP-5: 5°C/min 昇温) であり、本研究の GC ピーク 1 の 2045 (HP-5 MS: 4°C/min

昇温) とほぼ一致する。

GC ピーク 8 は Belt et al. (2000) の XIV とよく一致する。分子イオン  $m/z$  346, ベースイオン 83, 特徴的フラグメントイオンは, 233, 291, 261, 165 である。GC ピーク 8 では, 相対的にフラグメント 207 が強い。保持指標は, Belt et al. (2000) では 2091 (HP-5: 5°C/min 昇温) であり, 本研究の GC ピーク 8 の 2092 (HP-5 MS: 4°C/min 昇温) とほぼ一致する。

GC ピーク 10 は Belt et al. (2000) の V と一致する。分子イオン  $m/z$  346, ベースイオン 95, 特徴的フラグメントイオンは, 207, 233, 261, 275, である。GC ピーク 10 では, このほかに 149, 163, 177, 192, 281 が認められる。これらのフラグメントは別の化合物を起源とする可能性が強い。保持指標は, Belt et al. (2000) では 2103 (HP-5: 5°C/min 昇温) であり, 本研究の GC ピーク 8 の 2105 (HP-5 MS: 4°C/min 昇温) とほぼ一致する。

GC ピーク 11 は Belt et al. (2000) の VI と一致する。分子イオン  $m/z$  346, ベースイオン 69, 特徴的フラグメントイオンは, 261, 233, 289, 275, 192 である。Belt et al. (2000) の VI では, イオン強度が  $233 < 261$  であるが, 本研究では  $233 > 261$  である。また, GC ピーク 11 では, Belt et al. (2000) の VI と比べ相対的に 317, 331 が弱い。保持指標は, Belt et al. (2000) では 2106 (HP-5: 5°C/min 昇温) であり, 本研究の GC ピーク 8 では 2109 (HP-5 MS: 4°C/min 昇温) とやや大きい。

GC ピーク 12 (保持指標 (2116: HP-5 MS)) は分子イオン  $m/z$  346 から 3 不飽和 C<sub>25</sub>HBI であり, Wraige et al. (1999) が記載した構造不明の 3 不飽和 C<sub>25</sub>HBI, 保持指標 (2117: HP-1, 2120: DB-5) と近いが, マススペクトルが異なる。

## 5. 考 察

2 不飽和 C<sub>25</sub>HBI は 3 種類がこれまでの研究によって構造決定がなされている。Yruela et al. (1990) は, 2 不飽和 C<sub>25</sub>HBI の構造を嫌氣的湖成堆積物から初めて記載した。この化合物は, Johns et al. (1999) の III に相当し, 本研究の GC ピーク 4 に相当する。Belt et al. (1994) は, 2 不飽和 C<sub>25</sub>HBI をカスピ海堆積物から検出し, マススペクトル, NMR スペクトルによって構造を決定した。

これは, Johns et al. (1999) の I に相当し, Grossi et al. (2004) による C<sub>25:2</sub> (2), 本研究の GC ピーク 5 に相当する。もう一つの構造決定された 2 不飽和 C<sub>25</sub>HBI は, Johns et al. (1999) が *Haslea ostrearia* から抽出し構造決定した XI であり, 本研究の GC ピーク 6 に相当する。

Xu et al. (2006) は 2 不飽和 C<sub>25</sub>HBI を 3 種記載しており, それぞれを保持指標から br 25: 2<sub>DB1</sub>2059, 2076, 2082 と記載した。本研究の GC ピーク 6 (保持指標: 2083) は br 25: 2<sub>DB1</sub>2082 に相当する。構造不明の GC ピーク 3 (保持指標: 2057) と br 25: 2<sub>DB1</sub>2059 について, 保持指標は近いがマススペクトルが一致しない。

Belt et al. (2000) は, *Pleurosigma intermedium* から不飽和 C<sub>25</sub>HBI の分析を行い, 3 不飽和 4 和種, 4 不飽和 4 種, 5 不飽和 2 種を記載した。本研究では, Belt et al. (2000) が構造決定を行った 3 不飽和 4 種の C<sub>25</sub>HBI 全てが検出された。また, Allard et al. (2001) は, 4 種の *Haslea* を培養し C<sub>25</sub>HBI について 2 不飽和 2 種, 3 不飽和 2 種, 4 不飽和 5 種, 5 不飽和 4 種, 6 不飽和 1 種を検出し, さらに NMR を用いて構造を明らかにした。これを本研究の結果と比較すると, Allard et al. (2001) の 2 不飽和 C<sub>25</sub>HBI である II および IV は, それぞれ本研究の GC ピーク 6 および 5 に相当する。また, 3 不飽和 C<sub>25</sub>HBI である VI と V は, それぞれ本研究の GC ピーク 10 と 11 に相当する。

## 謝 辞

本研究に用いた青海湖堆積物試料は, 東京大学大学院理学系研究科の松本良教授の御好意によるものであります。記して感謝致します。

## 引用文献

- Allard W.G., Belt S.T., Masse G., Naumann R., Robert J.-M. and Rowland S. (2001) Tetra-unsaturated sesterpenoids (Haslens) from *Haslea ostrearia* and related species. *Phytochemistry* **56**, 795-800.
- Belt S., Allard W.G., Masse G., Robert J.-M. and Rowland, S. (2000) Highly branched isoprenoids (HBIs) Identification of the most common and abundant sedimentary isomers. *Geochim. Cosmochim. Acta* **64**, 3839-3851.

- Belt S., Allard W.G., Masse G., Robert J.-M. and Rowland S. (2001) Structural characterization of C<sub>30</sub> highly branched isoprenoid alkenes (rhizenes) in marine diatom *Rhizosolenia setigera*. *Tetrahedron Letters* **42**, 5583-5585.
- Grossi V., Berker B., Geenevasen J.A.J., Schouten S., Raphael D., Fontaine M.-F. and Sinnighe Damste J.S. (2004) C<sub>25</sub> highly branched isoprenoid alkenes from the marine benthic diatom *Pleurosigma strigosum*. *Phytochemistry* **65**, 3049-3055.
- Johns L., Wraige E.J., Belt S.T., Lewis C.A., Masse G., Robert J.-M. and Rowland S.J. (1999) Identification of a C<sub>25</sub> highly branched isoprenoid (HBI) diene in Antarctic sediments, Antarctic sea-ice diatom and cultured diatoms. *Org. Geochem.* **30**, 1471-1475.
- 萩原成騎 (2004) 深海堆積物中の高分枝イソプレノイド炭化水素：C<sub>25</sub>HBI と C<sub>30</sub>HBI の GC/MS による解析. *Res.Org. Geochem.* **19**, 39-45.
- Sinninghe Damsté J.S., Rijpstra W.I.C., Coolen M.J. L., Schouten S. and Volkman J.K. (2007) Rapid sulfurisation of highly branched isoprenoid (HBI) alkenes in sulfidic Holocene sediments from Ellis Fjord, Antarctica. *Org. Geochem.* **38**, 128-139.
- Yruela I., Barbe A. and Grimalt J.O. (1990) Determination of double bond position and geometry in linear and highly branched hydrocarbons and fatty acids from gas chromatography-mass spectrometry of epoxides and diols generated by stereospecific resin hydration. *Journal of Chromatographic Science* **28**, 421-427.
- Xu Y., Jaffe, R., Wachnicka A. and Gaiser., E.E. (2006) Occurrence of C<sub>25</sub> highly branched isoprenoids (HBIs) in Florida Bay : Paleoenvironmental indicators of diatom-derived organic matter inputs. *Org. Geochem.* **37**, 847-859.