

第三紀海成珪質堆積岩中のホパン酸 —ホパン酸と28-ノルホパン酸のGC/MSによる解析—*

山本正伸**

(2004年9月16日受付, 2004年10月28日受理)

1. はじめに

ホパノイドは、バクテリアの細胞膜の主要構成物として広く含まれている (Ourisson et al., 1979; Rohmer et al., 1992)。堆積物中にはこのホパノイドがほぼ普遍的に含まれており、シアノバクテリアを含むバクテリアの寄与を反映している。生体ホパノイドは基本的にスクアレンに由来する5環式のトリテルペノイド構造を持つが、地質時代堆積物や原油中からは22位, 25位, 28位, 30位の炭素が欠落した骨格をもつホパノイドも報告されている (Seifert et al., 1979など)。現世堆積物および未熟成堆積岩中ではホパノイドはホパン酸として多く存在する。このホパン酸は熟成堆積岩や原油に含まれるホパンなどのホパノイド炭化水素の前駆体であると考えられている。

ホパン酸はガスクロマトグラフィー質量分析法 (GC/MS) により同定された (Boon et al., 1978)。その後, 28-ノルホパン酸がGC/MS法により同定された (Simoneit and Mazurek, 1981; Yamamoto et al., in press)。

本報では、わが国の秋田地域の新第三系堆積岩に含まれるホパン酸と28-ノルホパン酸のGC/MS解析結果を報告する。

2. 試料

東北日本秋田含油新第三系堆積盆の矢島地域に分布する女川層 (中新世) から採取した露頭岩石

試料 (試料番号927-3; Yamamoto and Watanabe, 1994; 山本, 1998) を分析に用いた。

3. 分析方法

ホパン酸の抽出・分離

抽出性有機物 (抽出物) は岩石粉末試料 (20~30g) から Tacator 社製改良型ソックスレー抽出器 (ソクテックス HT-2) を用いて抽出した (ベンゼン/メタノール混合溶媒 (7/3 v/v), 15時間 (煮沸2時間, 洗浄13時間, 2-3回)。元素硫黄は還元銅小片を沸騰したフラスコに加えることにより除去した。抽出物はロータリーエヴァポレーターを用いて濃縮し, 窒素ガス気流下で乾固した。

得られた抽出物を0.5規定水酸化カリウム・メタノール溶液を用いて窒素ガス下で100℃で2時間ケン化した。ケン化終了後, 溶液を遠沈管に移し窒素気流化で濃縮し, 蒸留水を添加した。ヘキサン・ジエチルエーテル (85:15) で5回抽出することにより中性フラクションを得た。残りの水相に12規定塩酸の添加し pH3 以下に調整した後, ヘキサン・ジエチルエーテル (85:15) で5回抽出することにより酸性フラクションを得た。酸性フラクションを三弗化ほう素/メタノール (14%) を用いてメチル化した (80℃, 15分間) 後, シリカゲル担体のカラムクロマトグラフィーによって以下の3つのフラクションに分画した。溶出液の順序はヘキサン/トルエン (3:1) (A1 フラクション), トルエン (A2 フラクション), トルエン/

* Hopanoic acids in Tertiary marine siliceous rocks - GC/MS analysis of major regular hopanoic and 28-norhopanoic acids

** 北海道大学大学院地球環境科学研究科, 〒060-0810 札幌市北区北10条西5丁目

Masanobu Yamamoto: Graduate School of Environmental Earth Science, Hokkaido University, Kita-10, Nishi-5, Kita-ku, Sapporo, Hokkaido 060-0810, Japan

メタノール (3:1) (A3 フラクション) である。A2 フラクションを尿素アダクト法 (駒津ほか, 1999) を用いて, 直鎖フラクション (A2-1 フラクション; n-脂肪酸) と分岐・環状フラクション (A2-2 フラクション; 分岐脂肪酸, ホパン酸など) に分離した。

ガスクロマトグラフィー・質量分析 (GC/MS)

A2-2 フラクションをトルエン溶媒中に溶解し, Hewlett-Packard 社製 5973 型ガスクロマトグラフ・質量検出器計 (オンカラム導入部, 電子圧力制御, 四重極型質量分析器, CP-Sil5 (60m 長, 0.25mm 径, 0.25 μ m 厚) キャピラリーカラム) に導入して分析した。オープン温度は 110°C から 130°C までは 20°C/min. で, 130°C から 310°C までは 4°C/min. で昇温した後, 310°C で 40 分間保持した。キャリアガスとして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 50-650) で行った。イオン化電圧は 70eV に設定した。

ガスクロマトグラフィー (GC)

Kovats 保持指標値を求めるために, n-アルカン (n-C₁₀~n-C₄₀) を加えた A2-2 フラクションを Hewlett-Packard 社製 5890 シリーズ 2 型ガスクロマトグラフ (オンカラム導入部, 電子圧力制御, 水素炎検出器, CP-Sil5 (60m 長, 0.25mm 径, 0.25 μ m 厚) キャピラリーカラム) に導入して分析した。オープン温度は 110°C から 300°C までは 70°C/min. で昇温したのち, 300°C で 40 分間保持した。

Kovats 保持指標値は以下の式を用いて求められた。

$$I=100\{(\log t_A - \log t_Z)/(\log t_{Z+1} - \log t_Z) + Z\}$$

但し, t_A = 測定対象化合物の保持時間, t_Z = 炭素数 Z の n-アルカンの保持時間, 保持時間は 300°C に達した時点をおとする。

4. 結果

ホパン酸はメチル化され, ホパン酸-メチルエステルとして GC/MS により分析にされた。GC/MS のガスクロマトグラム (全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

合物の名称や GC/MS 特性を Table 1 に, その同定のレベルを Table 2 に, 質量スペクトルと構造式を Fig. 2 に示す。

通常型ホパン酸

C₃₀~C₃₄ の通常型ホパン酸メチルエステルが検出された (Fig. 1 および Table 1 のピーク番号 7-11)。このうち, C₃₀ と C₃₄ ホパン酸メチルエステルは鮮明な質量スペクトルが得られなかったの, ここでは質量スペクトルを報告しない。ホパン酸メチルエステルの同定は GC/MS による保持時間と質量スペクトルを Boon et al. (1978) と比較して行った。フラグメント a (M-15) はメチル基 (CH₃) の脱離する [M-CH₃]⁺ であり, b (M-74) はカルボン酸メチルエステル (C₃H₆O₂) が β 解裂により脱離する [M-C₃H₆O₂]⁺, c (m/z 369) は側鎖の脱離した A-E 環核 C₂₇H₄₅⁺, d (M-221) は AB 環 (C₁₆H₂₉) の脱離した [M-C₁₆H₂₉]⁺, f (m/z

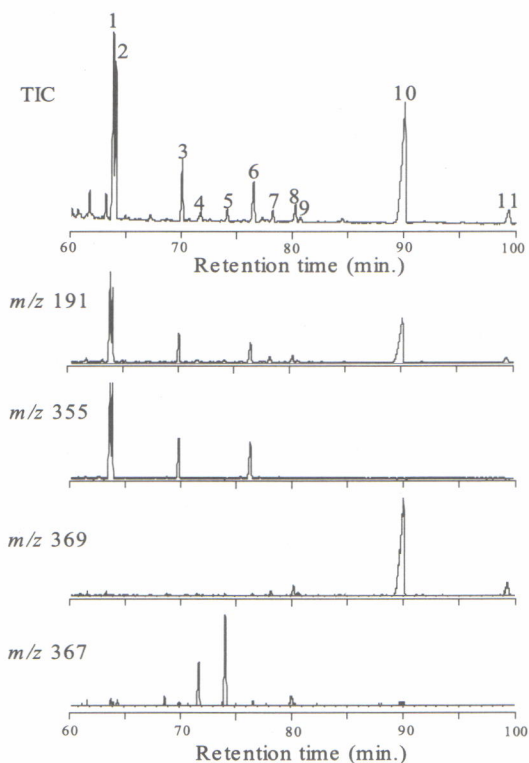


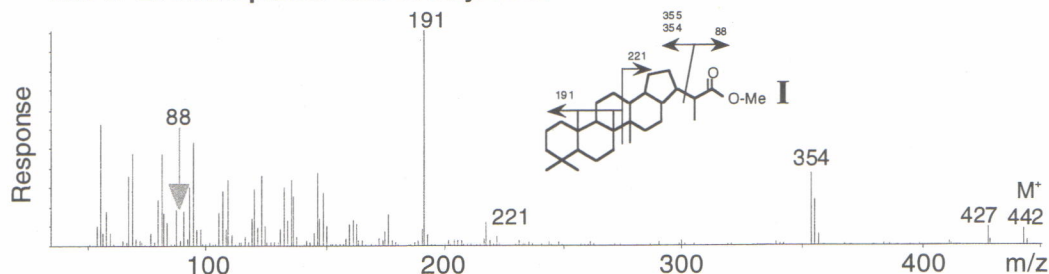
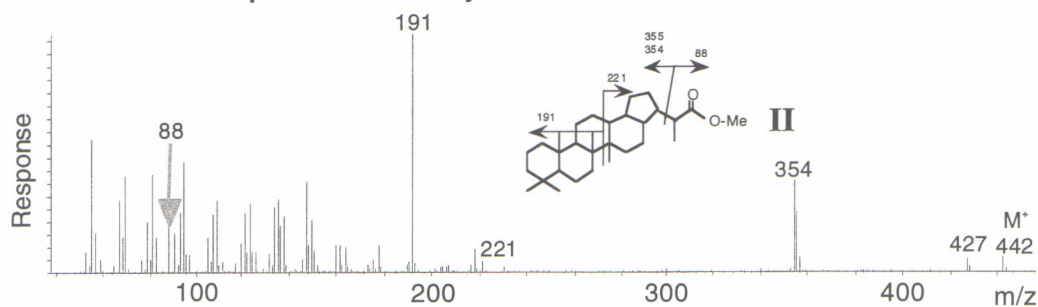
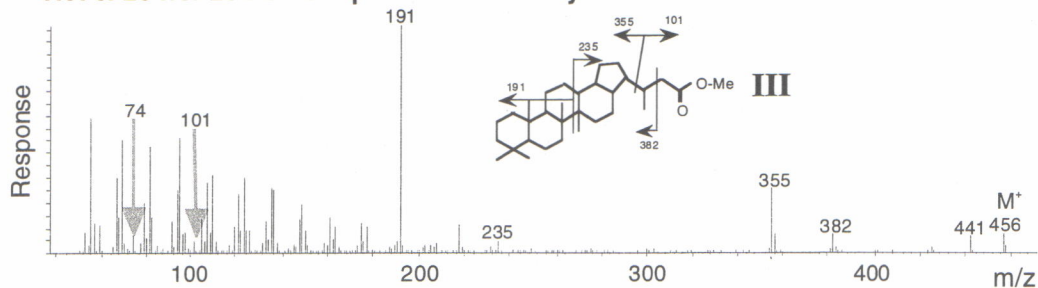
Fig. 1. Total ion chromatogram and the fragmentograms at m/z 191, 355, 369 and 367 of the A2-2 fraction from sample no. 927-3 (the Miocene Onngawa Formation, Akita).

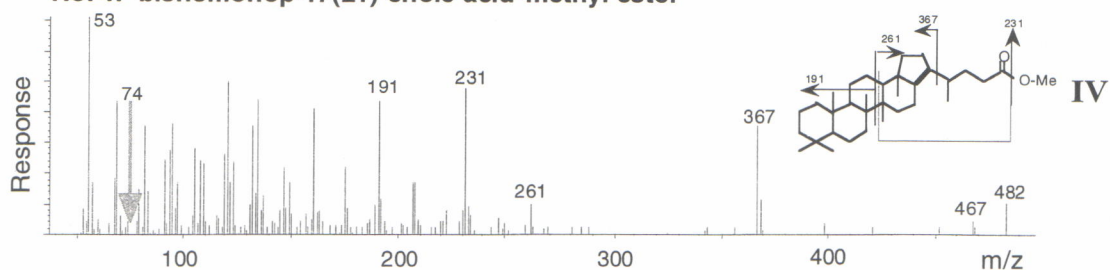
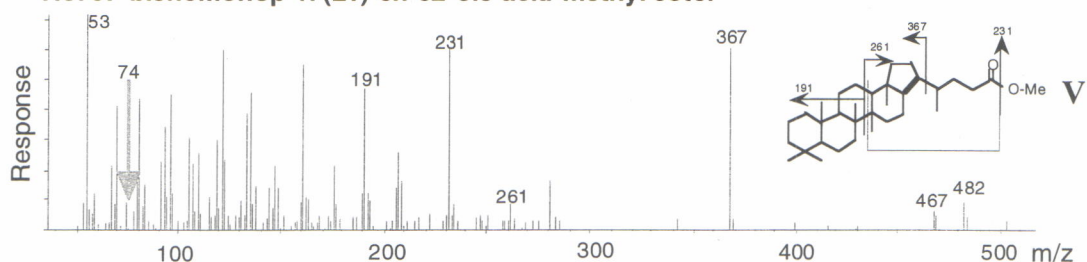
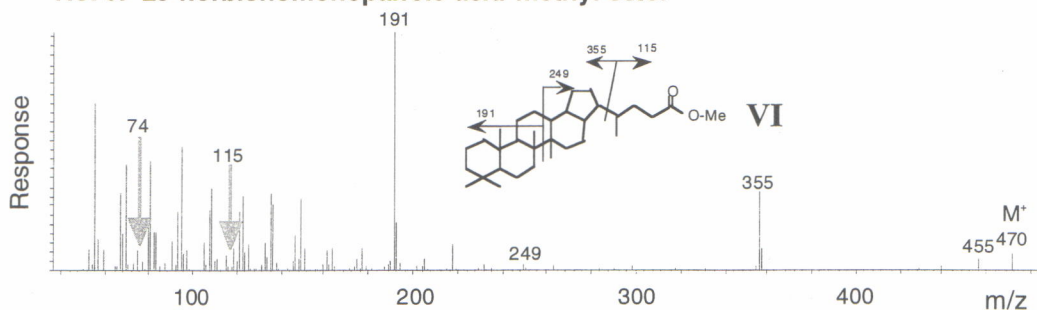
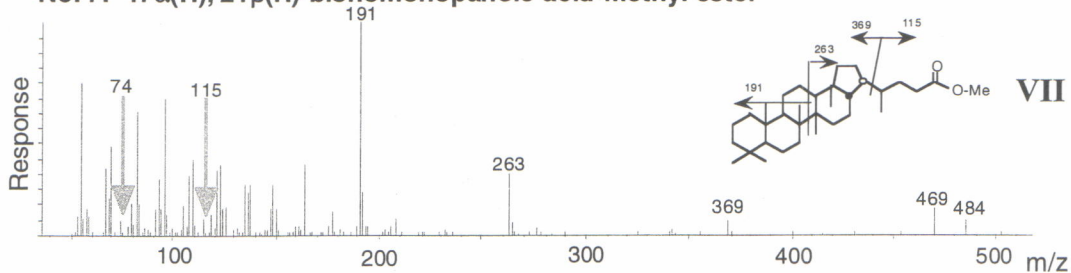
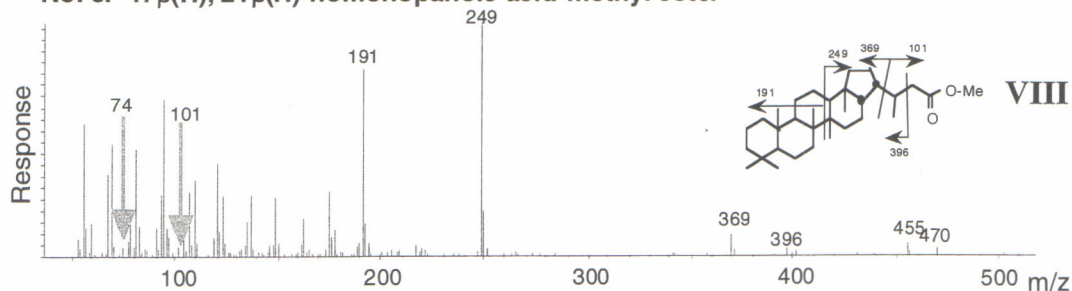
Table 1. Identification of hopanoic, hopanoic and 28-norhopanoic acids

Peak no.*	Compound name	Carbon number	Formula (methylated)	Molecular wt (methylated)	Retention index I ^{CP-Sil5} ₃₀₀	Base peak m/z	Diagnostic fragment ions (m/z)							
							a	b	c	d	e	f	g	h
1	28-norhopanoic acid-methyl ester (I)	29(30**)	C ₃₀ H ₅₀ O ₂	442	3404	191	427		354	221		191		88
2	28-norhopanoic acid-methyl ester (II)	29(30)	C ₃₀ H ₅₀ O ₂	442	3409	191	427		354	221		191		88
3	28-norhomohopanoic acid-methyl ester (III)	30(31)	C ₃₁ H ₅₂ O ₂	456	3541	191	441	382	355	235		191	101	74
4	bishomohop-17(21)-enoic acid-methyl ester (IV)	32(33)	C ₃₃ H ₅₄ O ₂	482	3576	53	467		367	261	231	191		74
5	bishomohop-17(21)-enoic acid-methyl ester (V)	32(33)	C ₃₃ H ₅₄ O ₂	482	3618	53	467		367	261	231	191		74
6	28-norbishomohopanoic acid-methyl ester (VI)	31(32)	C ₃₂ H ₅₄ O ₂	470	3657	191	455		355	249		191	115	74
7	17 α (H), 21 β (H)-bishomohopanoic acid-methyl ester (VII)	32(33)	C ₃₃ H ₅₆ O ₂	484	3684	191	469		369	263		191	115	74
8	17 β (H), 21 β (H)-homohopanoic acid-methyl ester (VIII)	31(32)	C ₃₂ H ₅₄ O ₂	470	3714	249	455	396	369	249		191	101	74
9	17 β (H), 21 α (H)-bishomohopanoic acid-methyl ester (IX)	32(33)	C ₃₃ H ₅₆ O ₂	484	3722	191	469		369	263		191	115	74
10	17 β (H), 21 β (H)-bishomohopanoic acid-methyl ester (X)	32(33)	C ₃₃ H ₅₆ O ₂	484	3842	263	469		369	263		191	115	74
11	17 β (H), 21 β (H)-trishomohopanoic acid-methyl ester (XI)	33(34)	C ₃₄ H ₅₈ O ₂	498	3941	277	483		369	277		191	129	74

Retention index was measured by isothermal GC analysis at 300 °C using a CP-Sil5 column.

*Peak numbers refer to the chromatogram in Fig. 1. **Carbon number as a methyl-ester derivative.

No. 1: 28-norhopanoic acid-methyl ester**No. 2: 28-norhopanoic acid-methyl ester****No. 3: 28-nor-29-homohopanoic acid-methyl ester**

No. 4: bishomohop-17(21)-enoic acid-methyl ester**No. 5: bishomohop-17(21)-en-32-oic acid-methyl ester****No. 6: 28-norbishomohopanoic acid-methyl ester****No. 7: 17 α (H), 21 β (H)-bishomohopanoic acid-methyl ester****No. 8: 17 β (H), 21 β (H)-homohopanoic acid-methyl ester**

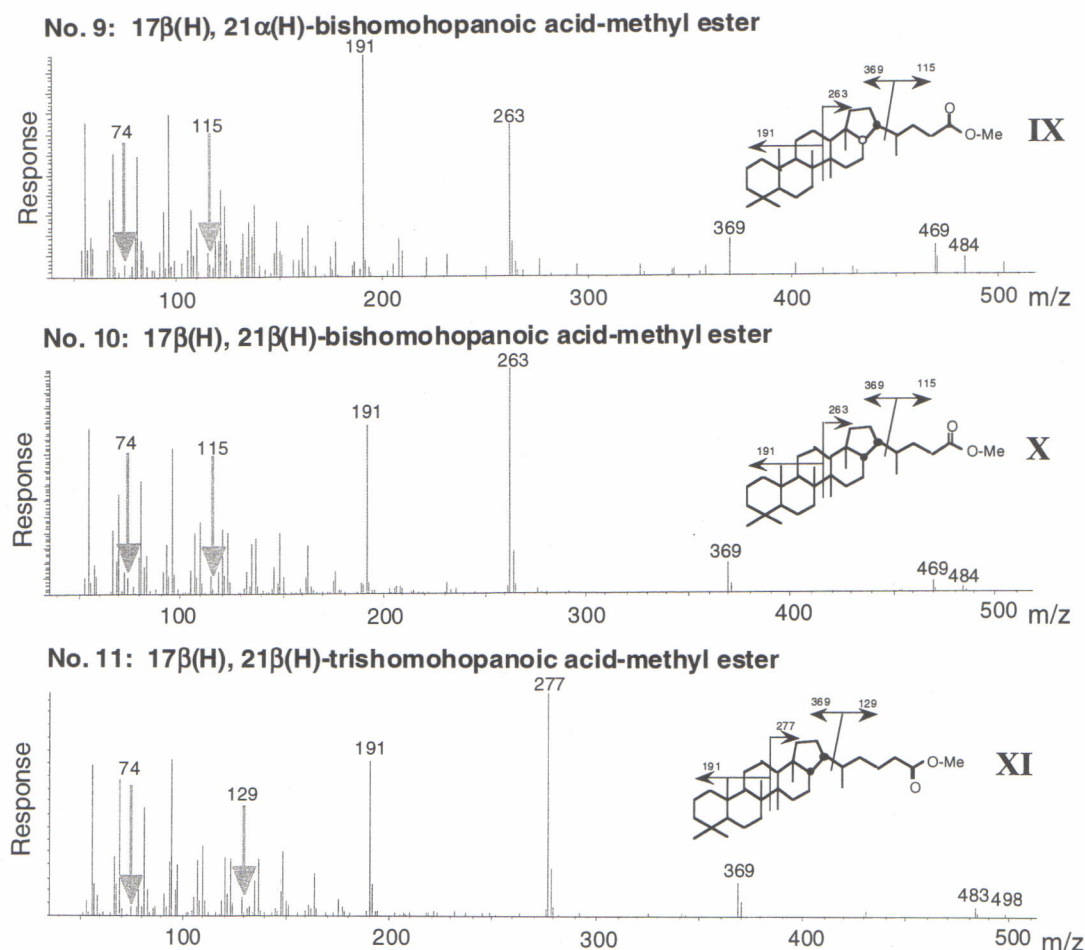


Fig. 2 Mass spectra of 28-norhopanoic, regular hopanoic and hopenoic acid-methyl esters. I-XI: Compound names are given in Table 1.

Table 2. Level of identification

Compound	Level in this study**	Level in a reference**	Reference paper
I	1	2	Yamamoto et al. (in press)
II	1	2	Yamamoto et al. (in press)
III	1	2	Yamamoto et al. (in press)
VI	2		
V	2		
VI	1	2	Simoneit and Mazurek (1981)
VII	1	2	Boon et al. (1978)
VIII	2		
IX	1	2	Boon et al. (1978)
X	1	2	Boon et al. (1978)
XI	2		

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

**Level of identification; 1: The mass spectrum is identical to that was reported in a reference,

2: Interpretation of mass spectral data.

191)はCD環と側鎖が脱離したAB環 $C_{14}H_{23}^+$, g (M-369)はA-E環核 ($C_{27}H_{45}$) が脱離した $[M-C_{27}H_{45}]^+$, h (m/z 74)はカルボン酸メチルエステルが McLafferty 転位を伴い脱離した $C_3H_6O_2^+$ である。b(M-74)は C_{31} ホパン酸メチルエステル (ピーク番号8) でのみ認められた。d (M-221)と f (m/z 191)の相対強度は17, 21-立体異性体により異なり, d/f 強度比は17 α (H), 21 β (H)異性体, 17 β (H), 21 α (H)異性体, 17 β (H), 21 β (H)異性体の順に大きくなり, 異性体の識別に有用である (Boon et al., 1978)。17 α (H), 21 β (H)異性体と17 β (H), 21 α (H)異性体では f (m/z 191)が基準ピークであり, 17 β (H), 21 β (H)異性体では d (M-221)が基準ピークである。通常型ホパン酸メチルエステルの検出には, f

(m/z 191) と $c(m/z$ 369) のフラグメントグラムが有用である (Fig. 2)。

28-ノルホパン酸

$C_{29} \sim C_{31}$ の 28-ノルホパン酸メチルエステルが検出された (Fig. 2 および Table 1 のピーク番号 1-3, 6)。28-ノルホパン酸メチルエステルの C_{31} 同族体の質量スペクトルは Simoneit and Mazurek (1981) により始めて示され、その後、Yamamoto et al. (in press) により $C_{29} \sim C_{31}$ 同族体の質量スペクトルの解析が行われた。フラグメントの解釈は通常型ホパンとほぼ同じであるが、ホパノイド核の骨格の違いに起因して、 $c(m/z$ 355) の A-E 環核 $C_{26}H_{43}^+$ の m/z 値は通常ホパン酸にくらべて 14 ダルトン小さい。 C_{29} の 28-ノルホパン酸では、メトキシカルボニル基が側鎖のメチル基を伴って脱離するため、フラグメント h は $C_4H_8O_2^+$ (m/z 84) となる。b(M-74) は C_{30} 28-ノルホパン酸メチルエステル (ピーク番号 3) でのみ認められた。d(M-221) と f(m/z 191) の相対強度比は通常型ホパン酸に比べて著しく小さい。ホパンと 28-ノルホパンに関しても同様な傾向があり (Nytoft et al., 2000)、メカニズムは不明であるが、28位メチル基の欠落が d/f 比に影響した可能性が示唆されている (Yamamoto et al., in press)。ピーク番号 1 とピーク番号 2 の化合物はほとんど同一の質量スペクトルを示す (Fig. 3)。保持指標値もほとんど同じであることから、22R と 22S エピマーであると推測されている (Yamamoto et al., in press)。同定された 28-ノルホパン酸は保持指標値から 17α (H), 21β (H) 異性体であることが推測されたが、今後の検討が必要である (Yamamoto et al., in press)。

ホペン酸

C_{32} の通常型ホペン酸が検出された (Fig. 2 および Table 1 のピーク番号 4, 5)。フラグメントの解釈は通常型ホパンとほぼ同じであるが、ホパノイド核の水素数の違いに起因して、 $c(m/z$ 367) の A-E 環核 $C_{27}H_{43}^+$ と d(M-221) の AB 環 ($C_{16}H_{29}$) の脱離する $[M-C_{16}H_{29}]^+$ の m/z 値は通常ホパン酸にくらべて 2 ダルトン小さい。また、e(M-251) は AB 環 ($C_{16}H_{29}$) とメトキシ基 (CH_3O)

の脱離する $[M-C_{17}H_{31}O]^+$ である。 $c(m/z$ 367) は強度が強く、ホペン酸を特徴付けるフラグメントイオンである。

引用文献

- Boon, J. J., de Leeuw, J. W. and Burlingame, A. L. (1978) Organic geochemistry of Walvis Bay diatomaceous ooze. III. Structural analysis of the monoenoic and polycyclic fatty acids. *Geochim. Cosmochim. Acta*, **42**, 631-644.
- 駒津美都紀・奈良岡浩・石渡良志 (1999) 堆積物中の直鎖および環状脂肪酸の尿素アダクトによる分離と分子レベル炭素同位体比測定への適用. *Res. Org. Geochem.*, **14**, 27-32.
- Nytoft, H. P., Bojesen-Koefoed, J. A. and Christiansen, F. G. (2000) C_{26} and $C_{28}-C_{34}$ 28-norhopanes in sediments and petroleum. *Org. Geochem.*, **31**, 25-39.
- Ouirsson, G., Albrecht, P. and Rohmer, M. (1979) The hopanoids: Paleochemistry and biochemistry of a group of natural products. *Pure & Appl. Chem.*, **51**, 709-729.
- Seifert, W. K., Moldowan, J. M., Smith, G. W. and Whitehead, E. V. (1978) First proof of structure of a C_{28} -pentacyclic triterpane in petroleum. *Nature*, **271**, 436-437.
- Simoneit, R. T. and Mazurek, M. A. (1981) Organic geochemistry of sediments from the southern California Borderland, Deep Sea Drilling Project Leg 63. In: Curran, J. R., Moore, D. G. et al. (Eds.), *Initial Reports of the DSDP*, Vol. **64**, U.S. Govt. Printing Office, Washington, pp. 837-853.
- Yamamoto M. and Watanabe Y. (1994) Biomarker geochemistry and paleoceanography of Miocene Onnagawa diatomaceous sediments, northern Honshu, Japan. In: Iijima A., Abed A. M., Garrison R. E. (Eds.), *Proc. 29th Int'l. Geol. Congr. Part C: Siliceous, Phosphatic and Glauconitic Sediments of the Tertiary and Mesozoic*, VSP, Utrecht, pp. 53-74.
- 山本正伸 (1999) 秋田県矢島地域新第三系堆積岩の各種結合態バイオマーカーの組成とその起源.

地調月報, **50**, 329-359.

Yamamoto, M., Naraoka, H., Ishiwatari, R. and
Ogihara, S. Carbon isotope signatures of

bacterial 28-norhopanoic acids in Miocene-
Pliocene diatomaceous and phosphatic
sediments. *Chem. Geol.* in press.