

クロロフィルの続成変化の解明と  
古環境解析への応用

筑波大学大学院  
生命環境科学研究科  
持続環境学専攻  
博士（環境学）学位論文

養田太一

## 目次

第 I 章	背景	1
I-1.	太古の光合成生物から読み解く地球環境変動の歴史	2
I-2.	クロロフィルとバクテリオクロロフィル	2
I-3.	生物界大量絶滅の歴史と海洋無酸素事変	6
I-4.	続成変化と地層ポルフィリン	9
I-5.	地層ポルフィリンの存在形態と分析手法	14
I-6.	遊離態および結合態マレイミド類・フタルイミド類	21
I-7.	本研究の目的	21
第 II 章	堆積岩をクロム酸酸化して得られるマレイミド類と フタルイミド類はクロロフィル由来物質である	22
II-1.	序論	23
II-2.	実験手法	24
II-2-1.	試料	24
II-2-2.	堆積岩の分析	24
II-2-3.	加熱実験	25
II-3.	結果と考察	27
II-3-1.	堆積岩酸化性抽出物及び加熱実験生成物の分子分布の比較	27
II-3-2.	堆積岩酸化性抽出物及び加熱実験生成物の組成比の傾向の比較	29
II-4.	第 II 章のまとめ	31
第 III 章	地層ポルフィリンの脱メチル化指標を用いた熱熟成度の評価	32
III-1.	序論	33
III-2.	実験手法	39
III-2-1.	試料	39
III-2-2.	堆積岩の分析	43
III-3.	結果と考察	44
III-3-1.	ジメチルマレイミド・エチルメチルマレイミドの深度分布	44

III-3-2.	ジメチルマレイミド/エチルメチルマレイミド比と ビトリナイト反射率	44
III-3-3.	脱メチル化指標の加熱実験への利用	49
III-4.	第 III 章のまとめ	52
第 IV 章 結合態フタルイミド/マレイミド比を用いる 堆積物中の有機物の新しい熱熟成度指標		
IV-1.	序論	54
IV-2.	実験手法	54
IV-2-1.	試料	54
IV-2-2.	堆積岩の分析	56
IV-3.	結果と考察	57
IV-3-1.	存在量の深度分布	57
IV-3-2.	結合態フタルイミド/マレイミド比とビトリナイト反射率	69
IV-4.	第 IV 章のまとめ	71
第 V 章 北海道留萌地域の結合態マレイミド類を用いる後期白亜紀の 海洋無酸素事変の分子的証拠		
V-1.	序論	73
V-2.	実験手法	76
V-2-1.	堆積岩試料	76
V-2-2.	堆積岩の分析	76
V-2-3.	加熱実験試料とその合成	76
V-2-4.	加熱実験	77
V-3.	結果と考察	78
V-3-1.	ガスクロマトグラム-質量分析により検出された マレイミド類とフタルイミド類	78
V-3-1-1.	堆積岩酸化生成物	78
V-3-1-2.	加熱実験生成物	79
V-3-2.	堆積岩分析と加熱実験の比較による 海洋無酸素事変の分子的証拠	81

V-3-2-1.	堆積岩中および加熱実験生成物中の マレイミド類とフタルイミド類の組成比の比較・・・・・・・・・・	81
V-3-2-2.	堆積岩中および加熱実験生成物中の 総フタルイミド / 総マレイミド比・・・・・・・・・・	89
V-3-2-3.	堆積岩中の 4-メチルフタルイミド / 3-メチルフタルイミド比と 加熱実験生成物中のフタルイミド類同族体生成比・・・・・・・・・・	92
V-3-2-4.	堆積岩中および加熱実験生成物中の メチル- <i>iso</i> -ブチルマレイミド / メチル- <i>n</i> -ブチルマレイミド比	95
V-4.	第 V 章のまとめ・・・・・・・・・・	97
第 VI 章 実験の部・・・・・・・・・・		98
VI-1.	測定機器・・・・・・・・・・	99
VI-2.	モデルポルフィリンの合成・・・・・・・・・・	99
VI-3.	堆積岩の分析・・・・・・・・・・	100
VI-4.	加熱実験・・・・・・・・・・	100
引用文献・・・・・・・・・・		101
謝辞・・・・・・・・・・		108

## 図目次

図 I-1.	環境変化と光合成生物の関係 . . . . .	3
図 I-2.	光合成生物が生産するクロロフィル類と バクテリオクロロフィル類の分類 (上原, 2006) ならびに分子構造 (日本光合成研究会, 2003) . . . . .	5
図 I-3.	過去 6 億年の海生の動植物の科の数の変化と五大絶滅事変 C <sub>AM</sub> ; カンブリア紀, O; オルドビス紀, S; シルル紀, D; デボン紀, C <sub>AR</sub> ; 石炭紀, P; ペルム紀, T <sub>R</sub> ; 三畳紀, J; ジュラ紀, K; 白亜紀, T; 第 三紀 (Raup and Sepkoski, 1982) . . . . .	7
図 I-4.	海洋無酸素事変のメカニズム (仮説; Peter, 2007) と 嫌気性非酸素発生型光合成細菌類 . . . . .	8
図 I-5.	テトラピロール骨格の種類およびポルフィリン (DPEP) を構成する 各炭素・窒素原子の IUPAC-IUB 協定による位置番号 . . . . .	10
図 I-6.	堆積物中において存在が知られている様々な 地層ポルフィリン類の例 . . . . .	11
図 I-7.	堆積物中におけるクロロフィルの存在形態と分析手法 . . . . .	16
図 I-8.	マレイミド類およびフタルイミド類の 標準物質とクロマトグラム . . . . .	18
図 I-9.	C <sub>9</sub> マレイミドのガスクロマトグラム質量分析の特徴 . . . . .	19
図 I-10.	Northern Permian Basin コア試料 (3035.08 m) から抽出された 遊離態マレイミド <i>tert</i> -ブチルジメチルシリル誘導体の ガスクロマトグラム (Pancost <i>et al.</i> , 2002) . . . . .	20
図 II-1.	原油から抽出された遊離態地層ポルフィリンの クロム酸酸化生成物中のマレイミド類とフタルイミド類 (Barwise <i>et al.</i> , 1980; Martin <i>et al.</i> , 1980) . . . . .	24
図 II-2.	留萌地域基礎試錐堆積岩 (2300 m) 酸化性抽出物の ガスクロマトグラム 図中の英小文字 (a, b, c . . . y) は 図 I-8 と同じである . . . . .	28
図 II-3.	ETIO-III の加熱実験 (350°C, 48 h) 生成物のガスクロマトグラム 図中の英小文字 (a, b, c . . . y) は 図 I-8 と同じである . . . . .	28

図 II-4.	堆積岩中および ETIO-III の加熱実験 (350°C) 中の深度或いは加熱時間に対するアルキル側鎖の直鎖へ伸長する程度	29
図 II-5.	堆積岩中および ETIO-III の加熱実験 (350°C) 中の深度或いは加熱時間に対するエチル側鎖の脱メチル化の程度	30
図 II-6.	堆積岩中および ETIO-III の加熱実験 (350°C) 中の深度或いは加熱時間に対するアルキル側鎖の芳香族化の程度	30
図 III-1.	ビトリナイト反射率 ( $R_o$ ) 測定の作業手順 (平井, 1979)	34
図 III-2.	メチル又はジメチルナフタレン・フェナントレン同族体比を用いた熱熟成度指標	36
図 III-3.	DPEP / ETIO-III 比を利用した熱熟成度指標	37
図 III-4.	エチルメチルピロール骨格のエチル基の脱メチル化によるジメチルピロール骨格の形成	37
図 III-5.	脱メチル化指標と新庄地域堆積岩の分析結果 (Shimoyama <i>et al.</i> , 2001)	38
図 III-6.	留萌地域堆積岩のビトリナイト反射率 ( $R_o$ ) および分析試料	40
図 III-7.	相馬沖地域堆積岩のビトリナイト反射率 ( $R_o$ ) および分析試料	41
図 III-8.	仁賀保地域堆積岩のビトリナイト反射率 ( $R_o$ ) および分析試料	42
図 III-9.	留萌, 相馬沖, 仁賀保地域基礎試錐堆積岩のクロム酸酸化生成物のガスクロマトグラムと脱メチル化指標	45
図 III-10.	留萌, 相馬沖, 仁賀保地域基礎試錐堆積岩の D.I. 値 (○) とビトリナイト反射率 ( $R_o$ ) (●) の深度分布	47
図 III-11.	ビトリナイト反射率 ( $R_o$ ) と D.I. 値の関係 (仁賀保地域基礎試錐 3100 m を除く) ▲: 新庄地域堆積岩, ●: 留萌地域基礎試錐, ■: 相馬沖地域基礎試錐, ◆: 仁賀保地域基礎試錐	49
図 III-12.	ETIO-III の加熱によって生じた 3,4-DMPi とジメチルフタルイミド類 (DMPis) のモル比の加熱時間 (a) または D.I. 値 (b) に対するプロット図	51
図 IV-1.	アルキルポルフィリン側鎖の熱熟成による芳香族化	55
図 IV-2.	結合態フタルイミド / マレイミド比を利用した芳香族化指標	55

図 IV-3.	留萌地域基礎試錐 700 ~ 1700 m の結合態マレイミド類および フタルイミド類のガスクロマトグラム . . . . .	58
図 IV-4.	留萌地域基礎試錐 2300 ~ 3800 m の結合態マレイミド類および フタルイミド類のガスクロマトグラム . . . . .	59
図 IV-5.	留萌地域基礎試錐 4200 ~ 4510 m の結合態マレイミド類および フタルイミド類のガスクロマトグラム . . . . .	60
図 IV-6.	相馬沖地域基礎試錐 900 ~ 1700 m の結合態マレイミド類および フタルイミド類のガスクロマトグラム . . . . .	61
図 IV-7.	相馬沖地域基礎試錐 2700 ~ 3300 m の結合態マレイミド類および フタルイミド類のガスクロマトグラム . . . . .	62
図 IV-8.	仁賀保地域基礎試錐 500 ~ 1500 m の結合態マレイミド類および フタルイミド類のガスクロマトグラム . . . . .	63
図 IV-9.	仁賀保地域基礎試錐 2100 ~ 3100 m の結合態マレイミド類および フタルイミド類のガスクロマトグラム . . . . .	64
図 IV-10.	留萌, 相馬沖, そして, 仁賀保地域基礎試錐の総マレイミド類 (◆), 総フタルイミド類 (●), 芳香族化指標(▲), およびビトリナイト反 射率 ( $R_o$ )(○) の深度分布 . . . . .	68
図 IV-11.	ビトリナイト反射率 ( $R_o$ ) と芳香族化指標の関係 (仁賀保地域基礎 試錐 3100 m を除く) ▲: 新庄地域堆積岩, ●: 留萌地域基礎試錐, ■: 相馬沖地域基礎試錐, ◆: 仁賀保地域基礎試錐 . . . . .	70
図 V-1.	全有機炭素量や炭素同位体比から推定されている 海洋無酸素事変 (OAEs) の発生年代 (Mitsugi and Hirano, 1997) . . .	74
図 V-2.	緑色硫黄細菌が有するバクテリオクロロフィルと クロロフィルには無い特徴的な側鎖 . . . . .	74
図 V-3.	加熱実験に用いるクロロフィルとバクテリオクロロフィル それぞれの B 環に着目したモデルポルフィリン . . . . .	75
図 V-4.	留萌地域基礎試錐堆積岩 3600 m の結合態マレイミド類およびフタ ルイミド類のガスクロマトグラム; a: MMMi, b: DMMi, c: EMMi, d: MiPrMi, e: DEMi, f: MnPrMi, g: EiPrMi, h: MsecBmi, i: EnPrMi, j: MiBmi, k: MnBmi, l: Pi, m: 3-MPi, n: 4-MPi, o: 3,6-DMPi, p: 3-EPi, q: 4-EPi, r: 3,5-DMPi, s: 3,4-DMPi, t: 4,5-DMPi . . . . .	78

- 図 V-5. TMTiBP の加熱実験 (400℃, 5h) 生成物中のマレイミド類および  
フタルイミド類 . . . . . 80
- 図 V-6. ETIO-III の加熱実験 (400℃, 5h) 生成物中のマレイミド類およびフ  
タルイミド類; a: MMMi, b: DMMi, c: EMMi, d: MiPrMi, e: DEMi, f:  
MnPrMi, g: EiPrMi, h: MiBMi, i: MsecBMi, j: EnPrMi, k: MnBMi, l: Pi,  
m: 3-MPi, n: 4-MPi, o: 3,6-DMPi, r: 3,5-DMPi, s: 3,4-DMPi, t: 4,5-  
DMPi . . . . . 80
- 図 V-7. 留萌地域基礎試錐堆積岩中の総 Pis / 総 Mis 比の深度分布 . . . 89
- 図 V-8. TMTiBP と ETIO-III の加熱実験生成物中の加熱時間に対する  
総 Pis / 総 Mis 比 ◆: TMTiBP 300℃, ■: TMTiBP 350℃,  
◇: ETIO-III 300℃, □: ETIO-III 350℃ . . . . . 90
- 図 V-9. 留萌地域基礎試錐堆積岩中の 4-MPi / 3-MPi 比の深度分布 . . . 93
- 図 V-10. ETIO-III の加熱実験生成物中の D.I. 値に対する 4-MPi / 3-MPi 比  
△: 300℃, □: 350℃, ◇: 400℃, ○: 450℃ . . . . . 93
- 図 V-11. TMTiBP の加熱実験生成物中の加熱時間に対するフタルイミド類  
同族体生成比 △: 4-MPi, ×: Pi, □: 3-MPi . . . . . 94
- 図 V-12. ETIO-III の加熱実験生成物中の加熱時間に対するフタルイミド類  
同族体生成比 △: 4-MPi, ×: Pi, □: 3-MPi . . . . . 94
- 図 V-13. 留萌地域基礎試錐堆積岩中の MiBMi / MnBMi 比の深度分布 . . . 96
- 図 V-14. ETIO-III の加熱実験生成物中の D.I. 値に対する  
MiBMi / MnBMi 比 △: 300℃, □: 350℃ . . . . . 96



## 式および表目次

式 I-1.	クロロフィル <i>a</i> から DPEP への化学反応経路 (Treibs Scheme) . . . . .	13
式 II-1	堆積岩分析および加熱実験の作業手順 . . . . .	26
式 III-1.	CPI (Carbon Preference Index, 炭素数優位性指標) . . . . .	36
式 III-2.	結合態 DMMi および EMMi の分析の作業手順 . . . . .	43
式 III-3.	ラジカル機構による脱メチル化反応 . . . . .	52
式 IV-1.	結合態マレイミド類およびフタルイミド類の分析の作業手順 . . . . .	56
式 V-1.	TMTiBP の合成 . . . . .	77
式 V-2.	メチル- <i>iso</i> -ブチルピロール部位の熱変質による芳香環の 形成メカニズム (Asahina and Nomoto, 2012) . . . . .	90
式 V-3.	エチルメチルピロール部位の増炭反応を経由する芳香環の形成 メカニズム (Nomoto <i>et al.</i> , 2008; Asahina <i>et al.</i> , 2011) . . . . .	91
表 I-1.	化石記録 (海生無脊椎動物) に残された五大絶滅事変の絶滅強度 (Jablonski, 1994 を一部改変) . . . . .	7
表 III-1.	留萌, 相馬沖, 仁賀保地域基礎試錐堆積岩クロム酸酸化生成物中の DMMi と EMMi の濃度 . . . . .	46
表 IV-1.	留萌地域基礎試錐堆積岩クロム酸酸化生成物中の マレイミド類の濃度と芳香族化指標 . . . . .	65
表 IV-2.	留萌地域基礎試錐堆積岩クロム酸酸化生成物中の フタルイミド類の濃度 . . . . .	65
表 IV-3.	相馬沖地域基礎試錐堆積岩クロム酸酸化生成物中の マレイミド類の濃度と芳香族化指標 . . . . .	66
表 IV-4.	相馬沖地域基礎試錐堆積岩クロム酸酸化生成物中の フタルイミド類の濃度 . . . . .	66
表 IV-5.	仁賀保地域基礎試錐堆積岩クロム酸酸化生成物中の マレイミド類の濃度と芳香族化指標 . . . . .	67

表 IV-6.	仁賀保地域基礎試錐堆積岩クロム酸酸化生成物中の フタルイミド類の濃度	67
表 V-1.	留萌域基礎試錐堆積岩クロム酸酸化生成物中のマレイミド類 ( <i>MnBMi</i> , <i>MiBMi</i> を含む) と総 <i>Pis</i> / 総 <i>Mis</i> , 4-M <i>Pi</i> / 3-M <i>Pi</i> , <i>MiBMi</i> / <i>MnBMi</i> 比 と D.I. 値	82
表 V-2.	TMTiBP の加熱実験生成物中のマレイミド類の濃度および 総 <i>Pis</i> / 総 <i>Mis</i> 比	83
表 V-3.	TMTiBP の加熱実験生成物中のマレイミド類の濃度	84
表 V-4.	ETIO-III の加熱実験生成物中のマレイミド類の濃度および 総 <i>Pis</i> / 総 <i>Mis</i> , <i>MiBMi</i> / <i>MnBMi</i> 比と D.I. 値 (300-350°C)	85
表 V-5.	ETIO-III の加熱実験生成物中のマレイミド類の濃度および 総 <i>Pis</i> / 総 <i>Mis</i> , <i>MiBMi</i> / <i>MnBMi</i> 比と D.I. 値 (400-450°C)	86
表 V-6.	ETIO-III の加熱実験生成物中のフタルイミド類の濃度および 4-M <i>Pi</i> / 3-M <i>Pi</i> 比 (300-350°C)	87
表 V-7.	ETIO-III の加熱実験生成物中のフタルイミド類の濃度および 4-M <i>Pi</i> / 3-M <i>Pi</i> 比 (400-450°C)	88

## 化合物略称一覧

DPEP; Deoxophylloerythroetioporphyrin

ETIO-III; Etioporphyrin III

TMTiBP; 3,7,13,18-tetra *iso*-butyl-2,7,12,17-tetramethylporphyrin

MMMi; 2-methylmaleimide, (monomethylmaleimide)

DMMi; 2,3-dimethylmaleimide

EMMi; 2-ethyl-3-methylmaleimide

MnPrMi; 2-methyl-3-*n*-propylmaleimide

MiPrMi; 2-*iso*-propyl-3-methylmaleimide

MnBMi; 2-methyl-3-*n*-butylmaleimide

MiBMi; 2-*iso*-butyl-3-methylmaleimide

MsecBMi; 2-*sec*-butyl-3-methylmaleimide

EnPrMi; 2-ethyl-3-*n*-propylmaleimide

EiPrMi; 2-ethyl-3-*iso*-propylmaleimide

MnPenMi; 2-methyl-3-*n*-pentylmaleimide

MneoPenMi; 2-methyl-3-*neo*-pentylmaleimide

MnHexMi; 2-methyl-3-*n*-hexylmaleimide

THPi; 3,4,5,6-tetrahydrophthalimide, (2-cyclohexenemaleimide)

MMceMi; 2-(1-methoxycarbonyl)ethyl-3-methylmaleimide

Pi; Phthalimide

3-MPi; 3-methylphthalimide

4-MPi; 4-methylphthalimide

3-EPi; 3-ethylphthalimide

4-EPi; 4-ethylphthalimide

3,4-DMPi; 3,4-dimethylphthalimide

3,5-DMPi; 3,5-dimethylphthalimide

3,6-DMPi; 3,6-dimethylphthalimide

4,5-DMPi; 4,5-dimethylphthalimide

# 第 I 章

## 背景

# 第 I 章

## 背景

### I-1. 太古の光合成生物から読み解く地球環境変動の歴史

地球上の第一次生産者である光合成生物には、その生育環境の変動による影響が最も顕著に現れる。そのため、水圏の主な光合成生物である植物プランクトンや藻類などは、様々な影響を受けて (図 I-1) その量が増減する。光合成生物は、地球上の第一次生産者であるため、食物連鎖の底辺に位置している。光合成生物の存在量の増減は、これらを餌とする従属栄養生物の増減にも深く関わっているため、全生態系に関わる地球環境変動の原因解明に役立つツールとなる可能性を持っていると言えるだろう。光合成生物に特有の色素分子であるクロロフィル類は、生体の枯死後、その大部分が堆積物表面において微生物分解や化学分解を受け一方で、分解を免れた一部のクロロフィル類は堆積物中に取り込まれた後、圧力・地熱による地層反応、鉱物などの触媒作用などにより続成変化を受け、堆積物中の有機物 (クロロフィル類由来物質) として保存される。また、光合成生物の大量増殖などが発生した場合、それに由来する有機物が大量に沈殿し、微生物分解の際に必要な溶存酸素を大量消費する。そういった水環境下では、貧酸素または無酸素な水環境が発生し、嫌気性条件下でのみ生息可能なバクテリオクロロフィル類を有する非酸素発生型光合成硫黄細菌が増殖する。すなわち、クロロフィル由来物質には、それらを有していた光合成生物の情報が残されている。以上、述べたことから、各時代における光合成生物の量と種類に関する情報を得ることは、全生態系に関わる地球環境変動の歴史を読み解く上で重要な知見と成るため、大きな意義を持つ (例えば, Pancost *et al.*, 2002)。

### I-2. クロロフィルとバクテリオクロロフィル

現在、地球上全体では、年間約  $12 \times 10^2$  Mt ものクロロフィルが光合成生物により生産されおり、湖沼や海洋などの水界における光合成生物は、約 7 割を占める  $9 \times 10^2$  Mt 弱を生産している (Hendry G. A. F. *et al.*, 1987)。生物によるクロロフィルの生産は、生物と地球の歴史にとって大きな出来事である。クロロフィルは光エネルギーを補足し電位を発生する性質を持つため、太陽から降り注ぐ無尽蔵な光エネルギーを化学エネルギーに変換することが可能となった。

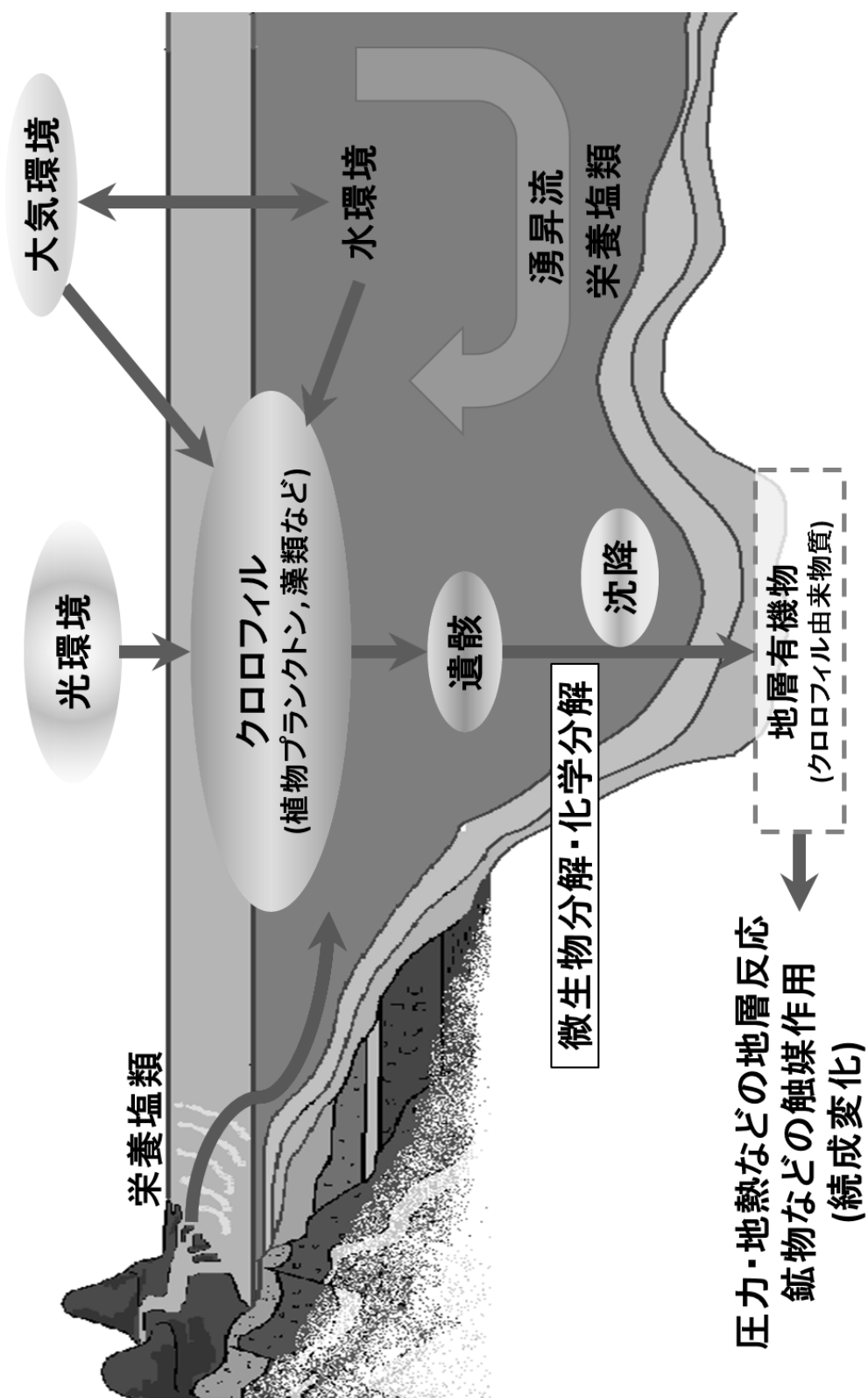
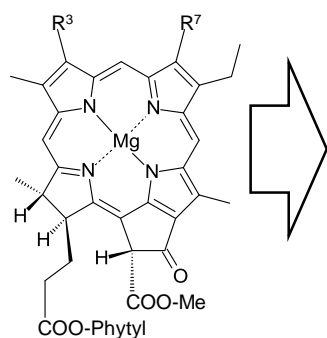


図 I-1. 環境変化と光合成生物の関係

その結果、クロロフィルを保有する光合成生物は、糖をはじめとして、多彩な化合物を生み出すことに成功した。これをきっかけに、地球上の生物は自立した進化の道を歩むことが可能になった。すなわち、生物と地球の共進化の土台作り成功したと言えるだろう。クロロフィル分子は、環状テトラピロールとイソサイクル環と呼ばれる 5 番目の環 (exo 環) で構成された基本骨格を有する。この分子側鎖を修飾することで、様々な波長の光を補足できる多様なクロロフィル分子を作ることが可能である。また、クロロフィル分子は捕捉した光エネルギーを近傍のクロロフィル分子に伝達できる性質も持つため、ある空間にクロロフィル分子を規則的に配置することで、光エネルギーを効率よく補足するための集光装置を構築することができる (田中, 2002)。

光合成生物が生産するクロロフィル類やバクテリオクロロフィル類の種類は、光合成生物によって様々である (図 I-2)。光合成生物は大きく分けて、酸素発生型と非酸素発生型に分類される。酸素発生型光合成生物は、共通してクロロフィル類を有する一方で、非酸素発生型光合成生物は、バクテリオクロロフィルのみを有する。また、これらの生育環境について、前者は有光層において広く分布しており、後者は、現代において、よどんだ湖底や黒海など貧酸素または無酸素な水環境下で見られ、酸素発生型光合成生物同様に、光合成に太陽光を必要とする。これらはエネルギーを得るために、他のほとんどの生物にとって毒である硫化水素ガスを酸化し、硫黄に転換している (Peter, 2007)。

クロロフィル類およびバクテリオクロロフィル類は、環状テトラピロール構造をとっており、種類に応じて特徴的な側鎖を持つピロール骨格を有しているため、構造からそれらを有していた光合成生物を特定できることが期待される。実際に、Pancost *et al.* (2002) は、ドイツ北部と南部のペルム紀の堆積物中の遊離態マレイミド類およびバナジル・ニッケルアルキルポルフィリン酸化生成物からメチル-*iso*-ブチルマレイミドを検出しており、その特徴的な構造からバクテリオクロロフィル *c, d, e* に由来するとして緑色硫黄細菌が過去に存在していたことを示す指標としている。



**Chlorophyll a:**  $R^3 = \text{Vinyl}$ ,  $R^7 = \text{Me}$

酸素発生型光合成生物；高等植物，緑藻，紅藻，褐藻，珪藻，渦鞭毛藻，原核緑藻，藍藻，アカリオクロリス

**Chlorophyll b:**  $R^3 = \text{Vinyl}$ ,  $R^7 = \text{CHO}$

酸素発生型光合成生物；高等植物，緑藻

**Chlorophyll d:**  $R^3 = \text{CHO}$ ,  $R^7 = \text{Me}$

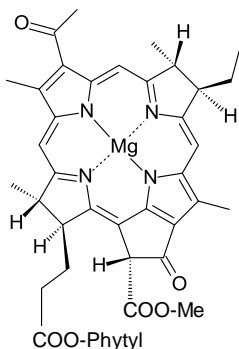
酸素発生型光合成生物；アカリオクロリス

**Chlorophyll c<sub>1</sub>:**  $R^7 = \text{Me}$ ,  $R^8 = \text{Et}$

**Chlorophyll c<sub>2</sub>:**  $R^7 = \text{Me}$ ,  $R^8 = \text{Vinyl}$

**Chlorophyll c<sub>3</sub>:**  $R^7 = \text{COOMe}$ ,  $R^8 = \text{Vinyl}$

酸素発生型光合成生物；褐藻，珪藻，渦鞭毛藻



**Bacteriochlorophyll a:**

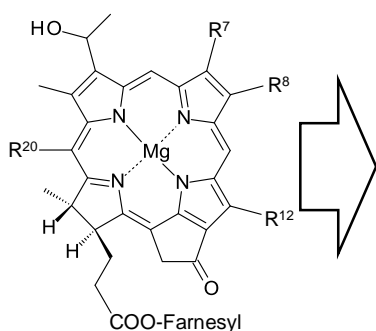
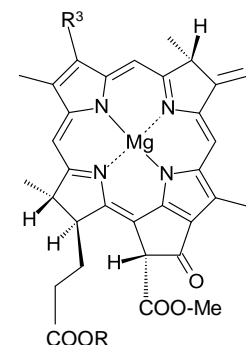
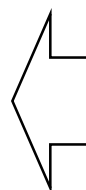
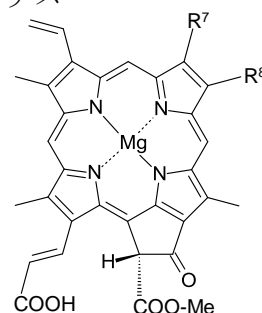
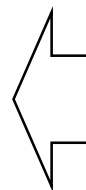
非酸素発生型光合成生物；紅色細菌，緑色糸状性細菌，緑色硫黄細菌

**Bacteriochlorophyll b:**  $R^3 = \text{COMe}$ ,  $R = \text{Phytyl}$

非酸素発生型光合成生物；紅色細菌

**Bacteriochlorophyll g:**  $R^3 = \text{Vinyl}$ ,  $R = \text{Farnesyl}$

非酸素発生型光合成生物；ヘリオバクテリア



**Bacteriochlorophyll c:**  $R^7 = \text{Me}$ ,  $R^8 = \text{Et}$ ,  $n\text{-Pr}$ ,  $i\text{-Bu}$  or  $neo\text{-Pen}$ ,  $R^{12} = \text{Me}$  or  $\text{Et}$ ,  $R^{20} = \text{Me}$

**Bacteriochlorophyll d:**  $R^7 = \text{Me}$ ,  $R^8 = \text{Et}$ ,  $n\text{-Pr}$ ,  $i\text{-Bu}$  or  $neo\text{-Pen}$ ,  $R^{12} = \text{Me}$  or  $\text{Et}$ ,  $R^{20} = \text{H}$

**Bacteriochlorophyll e:**  $R^7 = \text{CHO}$ ,  $R^8 = \text{Et}$ ,  $n\text{-Pr}$ ,  $i\text{-Bu}$  or  $neo\text{-Pen}$ ,  $R^{12} = \text{Me}$  or  $\text{Et}$ ,  $R^{20} = \text{Me}$

非酸素発生型光合成生物；緑色糸状性細菌，緑色硫黄

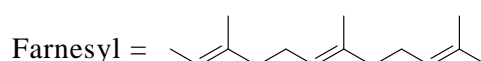
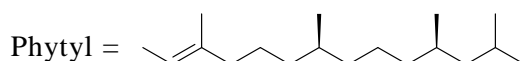


図 I-2. 光合成生物が生産するクロロフィル・バクテリオクロロフィル類の分類 (上原, 2006) ならびに分子構造 (日本光合成研究会, 2003)



### I-3. 生物界大量絶滅の歴史と海洋無酸素事変

生物界の大量絶滅は顕生代に何度も起きている（平野, 2006）。特に大規模な絶滅事変は、顕生代に 5 回起こったことが海生の動植物の化石記録より認識されている（Raup and Sepkoski, 1982）。これらの五大絶滅事変は、通称「big five」などとも呼ばれており、オルドビス紀 - シルル紀（O/S）境界、デボン紀後期 Frasnian - Famennian 期（F/F）境界、ペルム紀 - 三畳紀（P/T）境界、三畳紀 - ジュラ紀（T/J）境界、そして、白亜紀 - 古第三紀（K/Pg）境界に起こった（図 I-3; Raup and Sepkoski, 1982., 表 I-1; Jablonski, 1994）。絶滅事変の要因は、それぞれの事変によって異なると考えられている。古くは気候の寒冷化や海水準の低下が推定されてきたが、隕石衝突仮説（Alvarez *et al.*, 1980）の発表以降は、絶滅の要因を地球外に求める流れが席卷した。Raup and Sepkoski (1982) が、ペルム紀以降およそ 2600 万年の周期で大量絶滅が起こっていることを示した後は、その周期性に注目が集まり、地球外天体に関する仮説が次々と発表された。Rampino and Stothers (1988) は、洪水玄武岩の活動時期に着目し、洪水玄武岩の火成活動や海水準変動、地磁気変動、大量絶滅、そして小天体の衝突などが何れも約 3000 万年周期で起こっていると述べた。しかし、絶滅の周期性については、反対説（例えば、Patterson and Smith, 1987）が多くなり現在では、隕石衝突説は K/Pg 境界の絶滅以外では下火になっている。隕石衝突説の衰退に伴うかの様に、近年、絶滅の要因ではないかと注目を集めているのが海洋無酸素事変である。五大絶滅事変のうち、O/S, F/F, そして、P/T 境界の 3 回の絶滅事変は、海洋無酸素事変がその要因だったのではないかと考えられており、その他にも、ジュラ紀や白亜紀などにも何度も発生し、生物の絶滅を引き起こしたと推定されている（石浜, 2007）。海洋無酸素事変とは、海洋環境の酸素欠乏状態が大規模に拡大する現象であり、そのメカニズムの仮説として、火山活動などにより地球温暖化が進行した結果、大気から海へ溶け込む酸素量が減少することに起因するとした考えがある（例えば、Peter, 2007; 大河内・黒田, 2010）。水環境において、酸素欠乏が進行すると、それに伴って酸化的な水環境と還元的な水環境の境界（酸化還元境界）が上昇し、有光層に達した還元的な水環境下では I-2 でも述べたが、バクテリオクロフィルを有する嫌気性細菌類が大量に繁殖する（図 I-4）。以上のことから、それら嫌気性細菌類の残留物質（バクテリオクロフィル由来物質）は海洋無酸素事変の解明に役立つツールとなるポテンシャルを持つ。

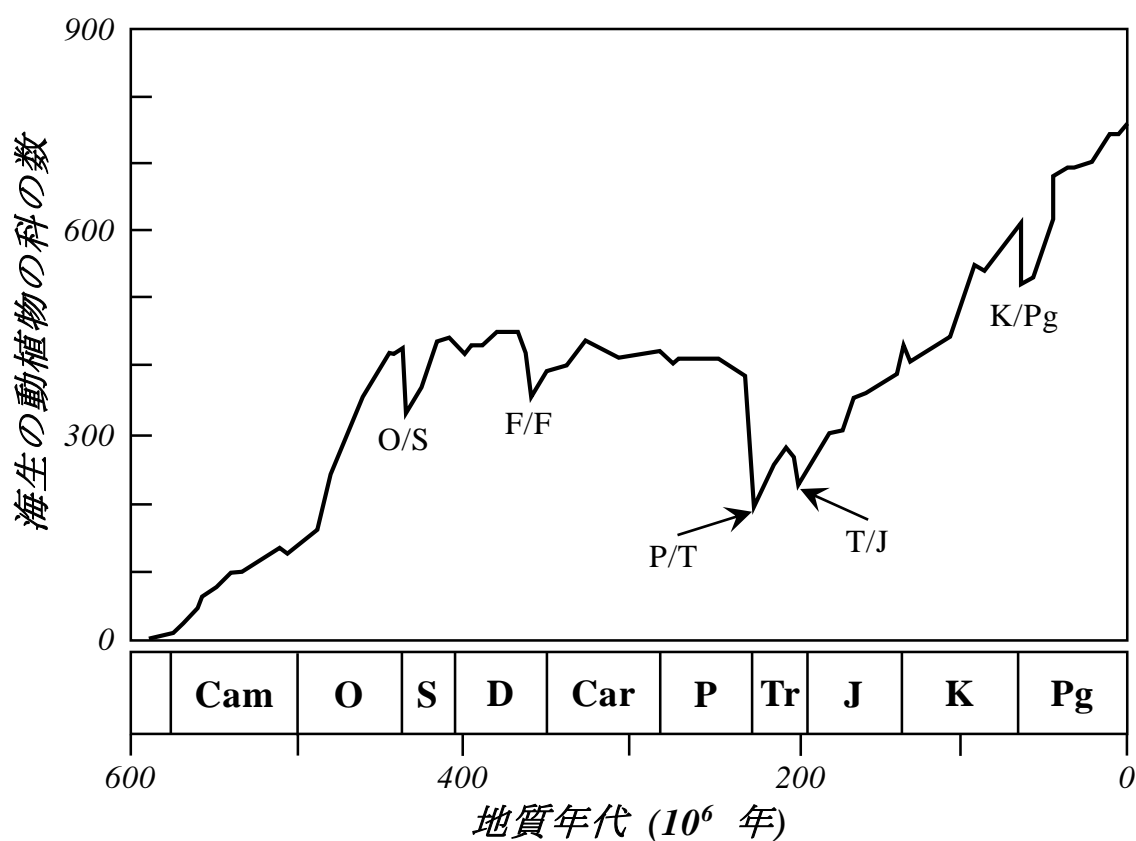


図 I-3. 過去 6 億年の海生の動植物の科の数の変化と五大絶滅事変

CAM; カンブリア紀, O; オルドビス紀, S; シルル紀, D; デボン紀, CAR; 石炭紀, P; ペルム紀, TR; 三畳紀, J; ジュラ紀, K; 白亜紀, Pg; 古第三紀 (Raup and Sepkoski, 1982)

表 I-1. 化石記録 (海生無脊椎動物) に残された五大絶滅事変の絶滅強度 (Jablonski, 1994 を一部改変)

境界	観察された絶滅率	
	科	属
白亜紀 - 古第三紀 (K/Pg)	16 %	47 %
三畳紀 - ジュラ紀 (T/J)	22 %	53 %
ペルム紀 - 三畳紀 (P/T)	51 %	82 %
デボン紀後期の Frasnian - Famennian 期 (F/F)	22 %	57 %
オルドビス紀 - シルル紀 (O/S)	26 %	60 %

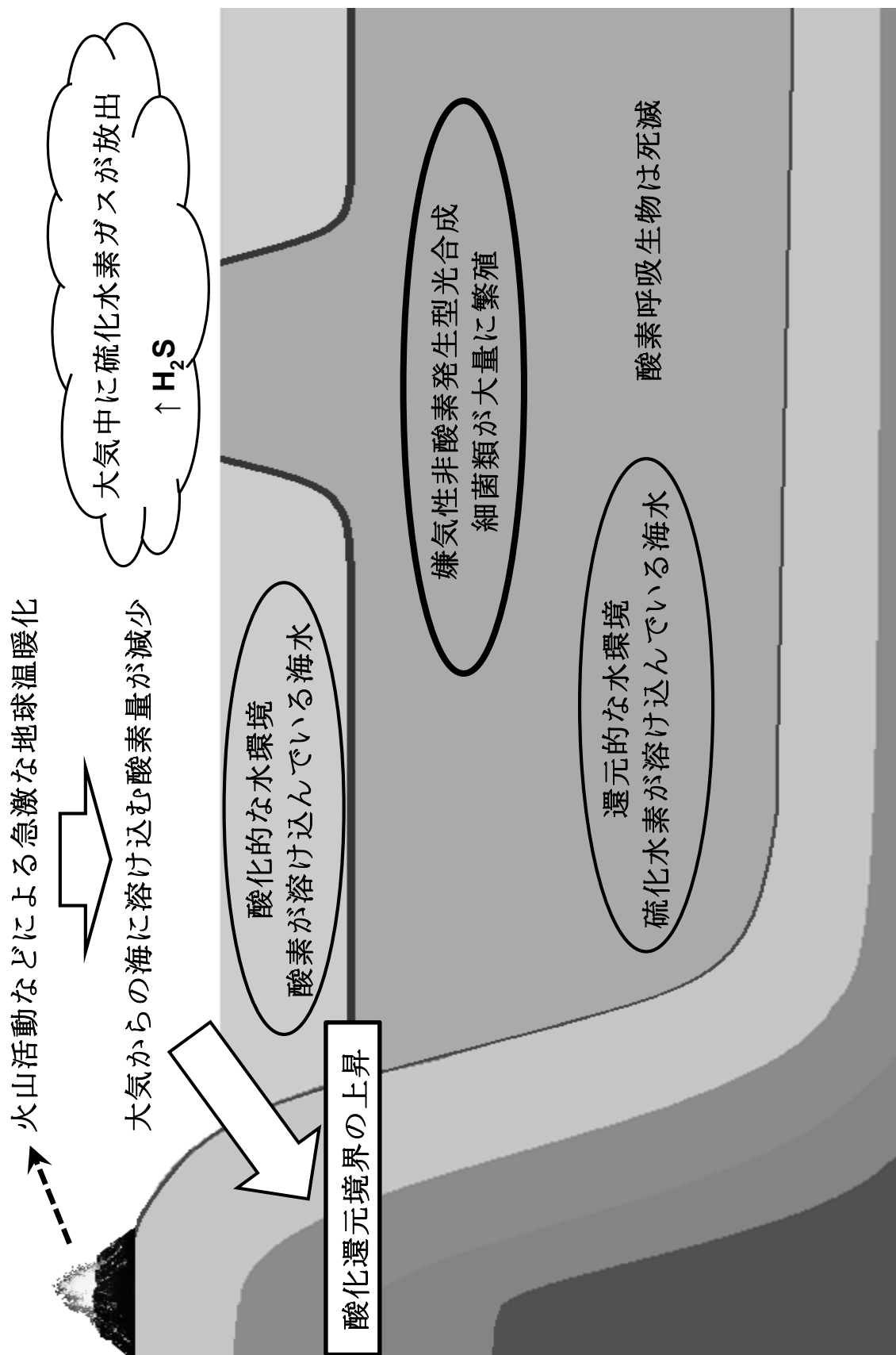
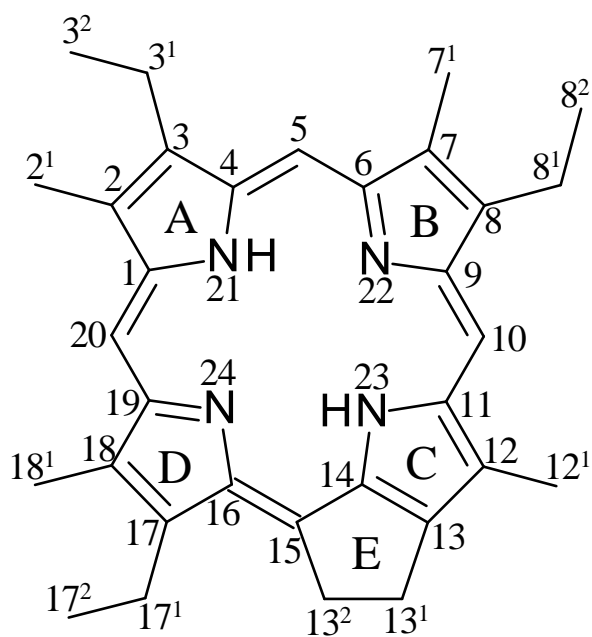


図 I-4. 海洋無酸素事変のメカニズム (仮説; Peter, 2007) と嫌気性非酸素発生型光合成細菌類

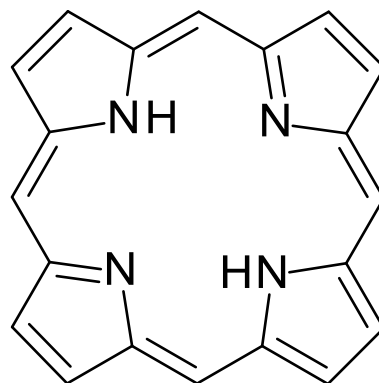
#### I-4. 続成変化と地層ポルフィリン解析の歴史

先に、ポルフィリンの構造と命名法について簡単に解説したい。まず、4 分子のピロールがメチン橋を通して環状に結び付いた構造は、「ポルフィン (porphin (e))」と呼ばれる。このポルフィンがアルキル基によって修飾されたものが「ポルフィリン (porphyrin)」である。また、クロロフィルの中心環のように環状構造の一部が飽和したものをクロリン (あるいはジヒドロポルフィン)、また、バクテリオクロロフィルのようにさらに飽和したものをバクテリオクロリン (あるいはテトラヒドロポルフィン) と呼ぶ (図 I-3)。次に、デオキシフィロエリトロエチオポルフィリン (図 I-3 (DPEP)) を例に IUPAC-IUB による命名法について解説する。4 つのピロール骨格を左上から時計回りに A 環, B 環, C 環, D 環と呼び C 環の下に五員環を有する場合、それを E 環と呼ぶ。テトラピロール骨格の炭素は、A 環左下の炭素を 1 位とし、そこから時計回りに一周 20 位までとする。骨格の内部に位置する窒素については A 環から時計回りに 21 位から 24 位となる。また、骨格を修飾しているアルキル基の炭素は、C2<sup>1</sup>, C3<sup>1</sup>, C3<sup>2</sup> … と、それが結合している骨格の炭素番号に上付きでテトラピロール骨格から近い順に番号を振っていく (大河内・柏山, 2009)。

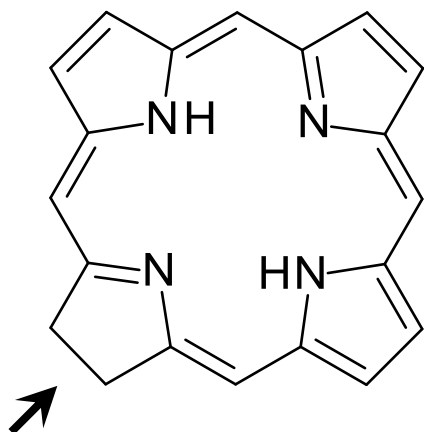
クロロフィル類は、先に述べたが、それらを有する生体の枯死後、その大部分が堆積物表面において微生物分解や化学分解を受け、最終的に無機化される一方で、分解を免れた一部のクロロフィル類は堆積物中に長期間保存される。その保存の過程で、圧力・地熱による地層反応、鉱物などの触媒作用などを受け、構造を徐々に変化させていく。この構造変化の過程を続成変化、続成変化をもたらす作用を続成作用と呼ぶ。堆積物中には様々な地層ポルフィリン類が存在することが知られている。地層ポルフィリン類は環状テトラピロール構造を有しており、生体内においてクロロフィル、ヘム、ビタミン B<sub>12</sub>、シトクロム c などの重要な役割を持つ様々な化合物の構造の一部を成している。しかし、自然界における生産量としては圧倒的にクロロフィル類が多いことから、地層ポルフィリンの起源は、クロロフィル類やバクテリオクロロフィル類が長期期間をかけて続成作用によって変換された化合物であることが最も妥当な考えである (例えば, Treibs, 1936; Baker, 1966)。これらは、多くの地質学的試料から見出されており、上記理由と構造からクロロフィルなどを起源とする分解産物であると考えられている。すなわち、地層ポルフィリンの側鎖や exo 環などの構造



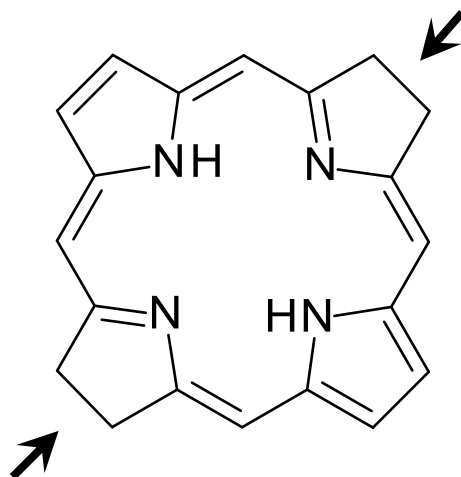
ポルフィリン  
デオキシフィロエリトロ  
エチオポルフィリン  
(DPEP)



ポルフィン



クロリン  
(ジヒドロポルフィン)



バクテリオクロリン  
(テトラヒドロポルフィン)

図 I-5. テトラピロール骨格の種類およびポルフィリンを構成する各炭素・窒素原子の IUPAC-IUB 協定による位置番号 (例; DPEP)

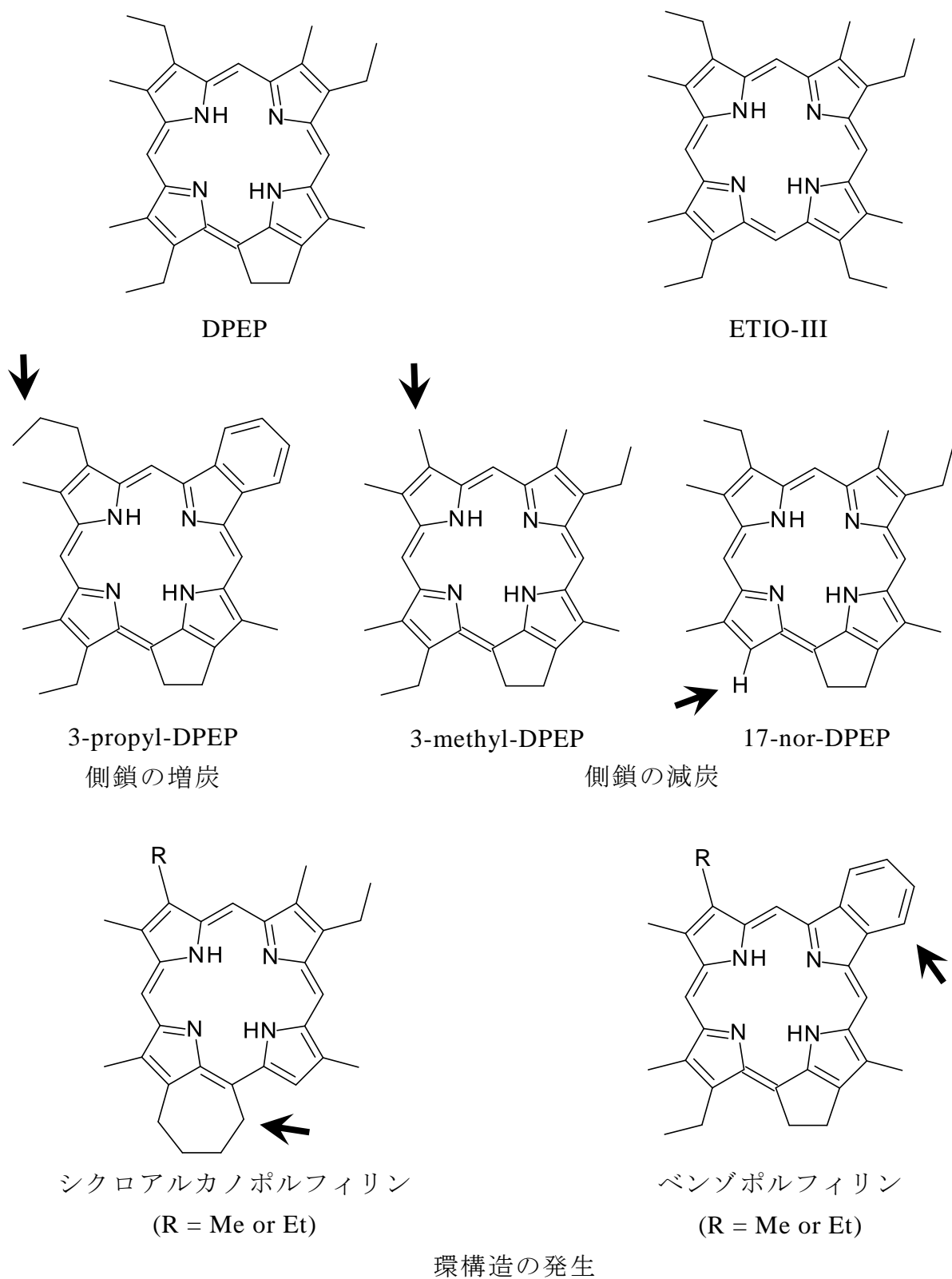
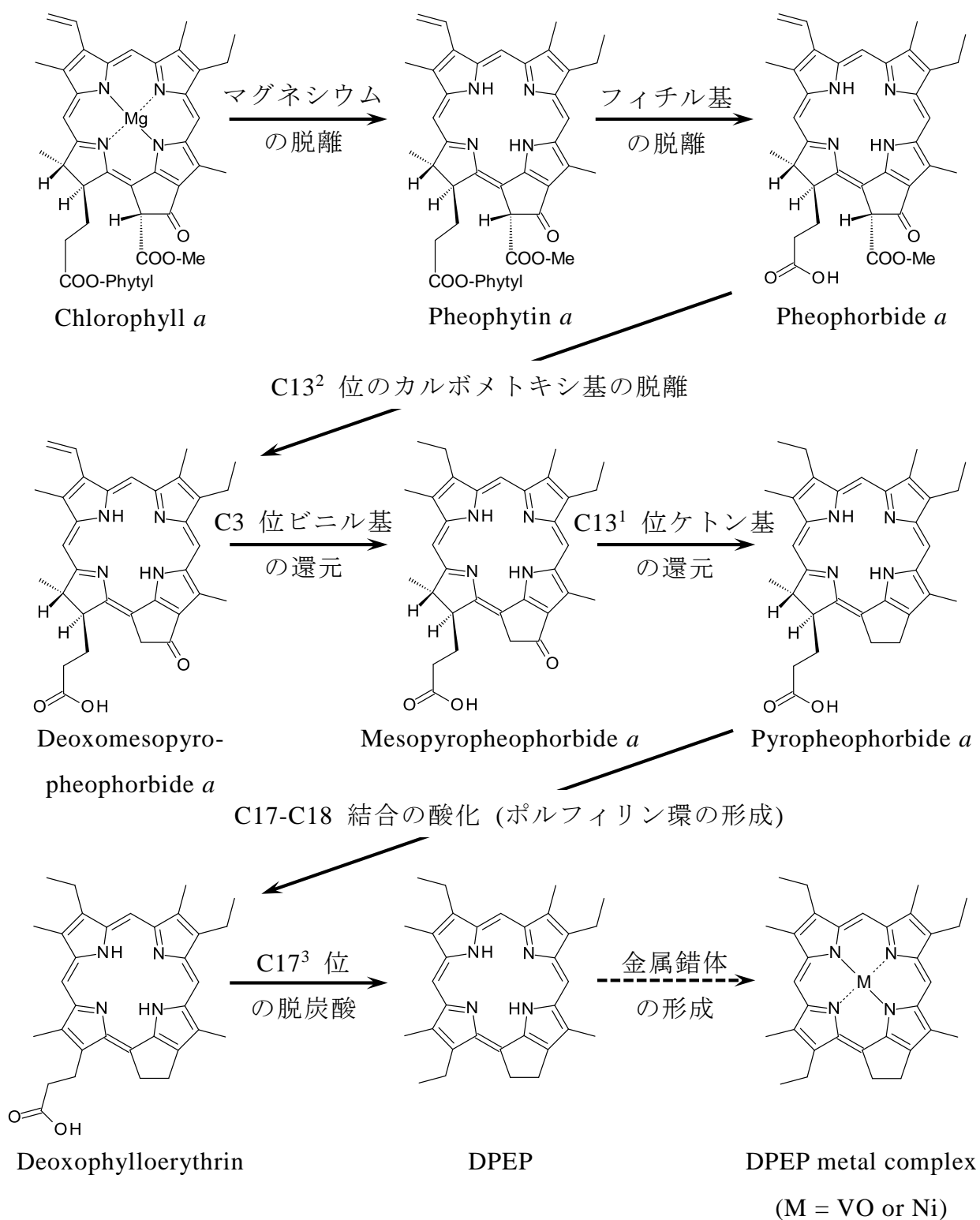


図 I-6. 堆積物中において存在が知られている様々な地層ポルフィリン類の例

的特徴は、それらの起源であるクロロフィル類やバクテリオクロロフィル類の構造を反映していると考えられるだろう。この様な、生物中に含まれる分子の特徴的な骨格を残す有機化合物は「分子化石」や「バイオマーカー（生物指標性化合物）」と呼ばれ、古生物学における化石と対比される（日本地球化学会, 2004）。すなわち、太古の昔の環境復元に役立つツールである（Pancost *et al.*, 2002）。地層ポルフィリン類は分離と構造決定の技術が発達した 1980 年代だけでも 80 種類以上の地層ポルフィリンが抽出され、その構造が明らかにされている（Huseby *et al.*, 1996）。代表的な化合物は、DPEP やエチオポルフィリン-III (ETIO-III) であり、微量成分として、ポルフィリンの B 環ピロール部位に芳香環が縮環した構造のベンゾポルフィリンなども発見されている（Kauer *et al.*, 1986）。その他にも側鎖アルキル基の伸張、あるいは脱離したもの、新たに環構造を形成したものなど多様な構造を有する地層ポルフィリンが知られている（図 I-4; 例えば, Huseby *et al.*, 1996）。地層ポルフィリン類の起源物質に関する研究は、1930 年代に地層ポルフィリンを堆積岩から初めて発見したミュンヘン工科大学の Alfred Treibs が、地層ポルフィリンがクロロフィル類やヘムなどの生体分子と非常に類似した化学構造を持つことを指摘したことに始まる（Treibs, 1934, 1936）。クロロフィル類から地層ポルフィリンの形成は一般に Treibs により提唱された「Treibs Scheme」と呼ばれるクロロフィル *a* から DPEP への反応経路が知られている。また、この反応経路では 8 つの化学反応が起こるとされている（Keely *et al.*, 1990）。すなわち、1) マグネシウムの脱離、2) フィチル基の脱離（エステル加水分解）、3) C13<sup>2</sup> 位のカルボメトキシ基の脱離、4) C3 位のビニル基の還元、5) C13<sup>1</sup> 位のケトン基の還元、6) C17-C18 位結合の酸化（ポルフィリン環の形成）、7) C17<sup>3</sup> 位の脱炭酸、8) 金属錯体の形成（主にバナジウムやニッケル錯体）である（式 I-1）。堆積物中に埋没したクロロフィル類は、不安定な官能基が続成作用によってより安定な官能基に変化し地層ポルフィリンとして保存されるが、自然界において、すべてのクロロフィル類が式 I-1 の反応経路をたどるとは限らない。実際に、これ以外の化学反応を示唆する上述した地層ポルフィリン類や中間体なども堆積物中から多数見出されている。その中の前述したベンゾポルフィリンは、地層ポルフィリンが発見されて以来（Treibs, 1936）、rhodo 型の可視スペクトルを持つ地層ポルフィリンとしてその存在は確認されていたが、1960 年代以降マスマスペクトルの解析（Baker *et al.*, 1967）と合成標品



式 I-1. クロロフィル *a* から DPEP への化学反応経路 (Treibs Scheme)



との可視スペクトルの比較により、その構造が提案された (Clezy *et al.*, 1977)。ベンゾポルフィリンの最初の化学的根拠は、Barwise and Whitehead (1980) が、ボスカン原油 (ベネズエラのボスカン油田より採取された原油) から抽出した rhodo 型ポルフィリンフラクションをクロム酸酸化して得られた生成物中に、フタルイミドとモノメチルフタルイミドの一つの異性体を確認したことによる。この事実は、芳香環にメチル基が置換したベンゾポルフィリン同族体の存在も示している。後に、Nomoto *et al.* (2001a) によってこのモノメチルフタルイミドは、3-メチル体であることが標準物質の合成により確認された。しかし、芳香環が縮環した構造のクロロフィルを持つ光合成生物の存在は知られていない。これまでに、地層ベンゾポルフィリンの生成機構に関する仮説については、いくつか提案されている (例えば、Nomoto *et al.*, 2010)。Asahina and Nomoto (2012) は、B 環に芳香環が形成可能な炭素数の側鎖であるメチル-*n*-プロピル、メチル-*iso*-ブチル側鎖を持つバクテリオクロロフィル *c*, *d* がモデルポルフィリンの加熱実験より、その起源物質であることを示唆している。

地層ポルフィリン類の起源光合成生物については、Matile *et al.* (1996) によると、陸上高等植物の場合、そのクロロフィルのほとんどは、落葉の前に酸化分解され、ポルフィン環が開裂した無色の化合物となると報告されている。実際に、力石らによる湖底堆積物中に含まれるフィオフィチンなどの炭素と水素の安定同位体比に関する研究結果 (Chikaraishi *et al.*, 2007) より、それらの大部分は、水界中の光合成生物に由来するもので、湖沼周辺の陸上生物の寄与はほとんどないと推定されている。すなわち、堆積物中の地層ポルフィリン類は陸上高等植物の寄与がほとんどない、水界中の光合成生物に究極的に由来するものであると考えられる。

### I-5. 地層ポルフィリン類の存在形態と分析手法

堆積物中の地層ポルフィリンは、堆積物試料から有機溶媒で直接抽出可能な遊離態分子とケロジェンに化学結合、あるいは強く保持されているため、そのままでは抽出することが出来ない結合態分子の二つの形態で存在している (例えば、Chames *et al.*, 1997; Schaeffer *et al.*, 1993; Blum, 1989)。一般に、熱熟成が進行した古い時代の堆積物では結合態の割合が増え、地層ポルフィリンの直接分析は困難となる。したがって、地層ポルフィリンの分析は、堆積物中から遊離態

分子を直接抽出して分析する方法と、結合態分子をクロム酸酸化などによって切り出して分析する方法があり、分析手法によって対象が異なる（例えば、Ellsworth and Aronoff, 1968; Furlong and Carpenter, 1988; Nomoto and Kigoshi, 2005）。遊離態地層ポルフィリンは試料から直接抽出して分析を行うため、ポルフィリンの構造的特徴などの詳細な情報を得ることが出来る一方で、その含有量が少ない試料では用いることが出来ない。そこで、当研究室では、結合態地層ポルフィリンのクロム酸酸化法による分析を地層ポルフィリン類の続成変化を研究する有用な手法としている。この方法は、対象の堆積物試料を洗浄後、クロム酸酸化することで、ケロジェンに結合、あるいは強く保持されている地層ポルフィリン類またはその断片のピロール骨格を架橋している部位を酸化して切り出すことで、ポルフィリン側鎖の情報を残すマレイミド類、フタルイミド類に変換して分析を行っている（図 I-5）。遊離態分子を用いる分析は、例えば、地層間の分子移動などにより年代の異なる堆積物からの化合物の混入や、汚染の影響を受ける可能性が指摘できる。しかし、クロム酸酸化法を用いる結合態分子の分析は、そのような汚染の影響をほとんど受けない、分析した堆積物そのものの値を見積もることが出来る利点があると考えられる。また、遊離態分子がほとんど残っていない古い時代の堆積物試料や熱熟成の進んだ堆積物試料の分析も可能となる。実際に、Nomoto *et al.* (2003) は、クロム酸酸化法を用いた 27 億年前のストロマトライトの分析より、マレイミド類、フタルイミド類が検出されることを報告している。

当研究室におけるマレイミド類、フタルイミド類の分析はガスクロマトグラフ-質量分析計 (GC-MS) を使用し、検出された化合物の同定・定量は以下に示す当研究室において合成された標準物質のマススペクトルとリテンションタイムとの比較によって行っている。解析に用いる標品は、3 種類の C<sub>5</sub>-C<sub>7</sub> マレイミドとして、メチルマレイミド (MMMi), ジメチルマレイミド (DMMi), エチルメチルマレイミド (EMMi), 3 種類の C<sub>8</sub> マレイミドとして、ジエチルマレイミド (DEMi), メチル-*iso*-プロピルマレイミド (MiPrMi), メチル-*n*-プロピルマレイミド (MnPrMi), 7 種類の C<sub>9</sub> マレイミドとして、メチル-*sec*-ブチルマレイミド (MsecBMi), メチル-*iso*-ブチルマレイミド (MiBMi), メチル-*n*-ブチルマレイミド (MnBMi), エチル-*iso*-プロピルマレイミド (EiPrMi), エチル-*n*-プロピルマレイミド (EnPrMi), メチル-*n*-ペンチルマレイミド (MnPenMi), メチル-*neo*-ペン

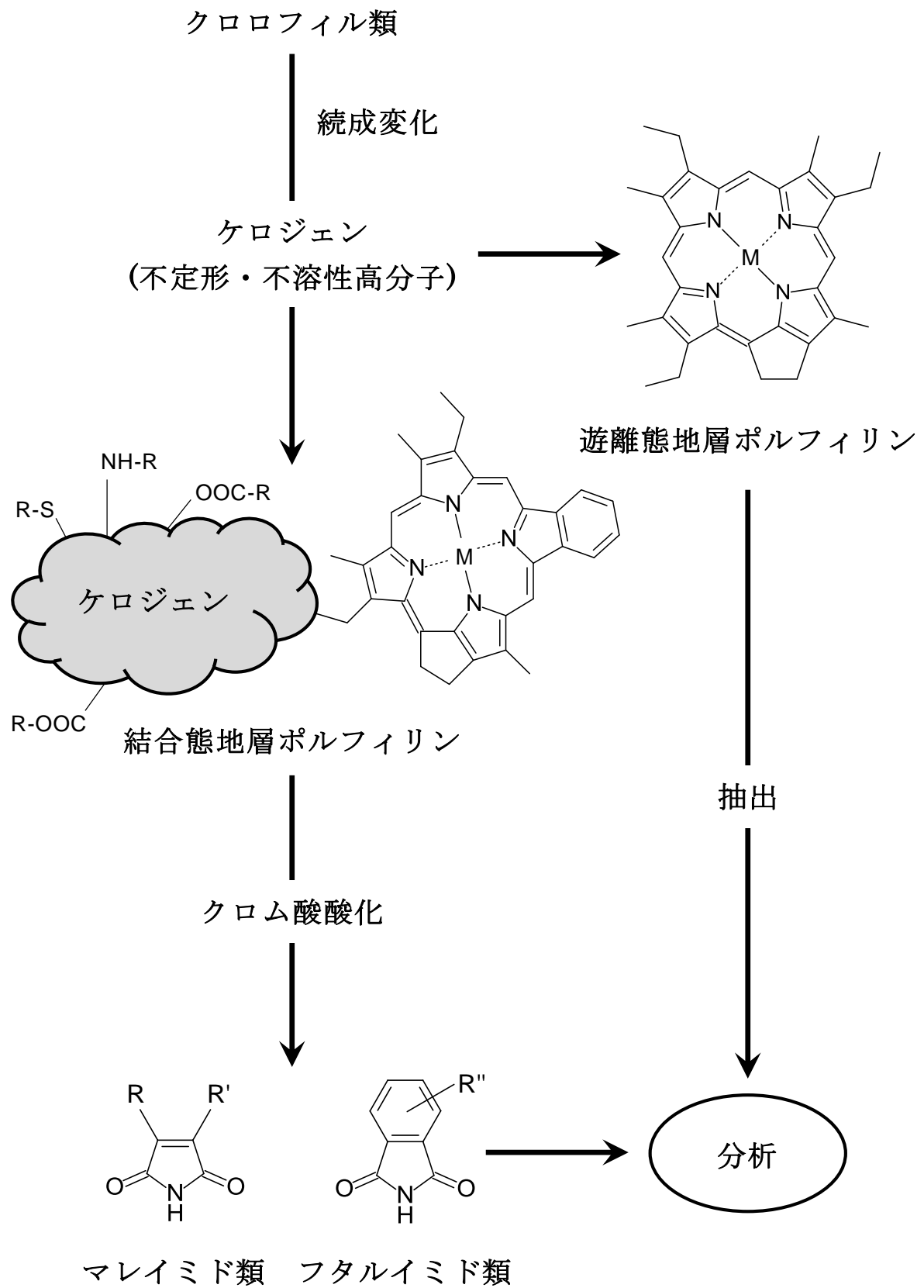


図 I-7. 堆積物中におけるクロロフィルの存在形態と分析手法

チルマレイミド (MneoPenMi), C<sub>10</sub> マレイミドとして, メチル-*n*-ヘキシルマレイミド (MnHexMi), その他のマレイミド類として, テトラヒドロフタルイミド (THPi), 3-メチル-4-メトキシカルボニルエチルマレイミド (MMceMi), そして, 9 種類のフタルイミド類として, フタルイミド (Pi), 3-メチルフタルイミド (3-MPi), 4-メチルフタルイミド (4-MPi), 3-エチルフタルイミド (3-EPi), 4-エチルフタルイミド (4-EPi), 3,4-ジメチルフタルイミド (3,4-DMPi), 3,5-ジメチルフタルイミド (3,5-DMPi), 3,6-ジメチルフタルイミド (3,6-DMPi), 4,5-ジメチルフタルイミド (4,5-DMPi) である (図 I-6)。尚, THPi はフタルイミドとなっているが, マレイミド類である。また, EMMi, MiPrMi と EiPrMi や EnPrMi と MnPrMi などは TIC ではほとんど同じ, あるいは非常に近い保持時間に検出されるが, それらは分子量が違うため, 相当する親イオンで解析することで同定容易である。一方で, EnPrMi と MiBMi などは非常に保持時間が近く, さらに分子量も同じため一見解析が困難に思えるが, EnPrMi は親イオン ( $m/z = 167$ ) が極大ピークとして検出される特徴をもつ一方で, MiBMi はフラグメントイオン ( $m/z = 125$ ) が極大ピークとして検出される特徴を持つため (図 I-7), 正確な同定を可能としている。この特徴などは, 合成標品を用いることで初めて得ることの出来る知見である。Pancost *et al.* (2002) は, マレイミド類の分析において堆積岩抽出物をフラッシュカラムクロマトグラフィーにより脂肪族炭化水素を含む 4 つの画分に分離して, それらに含まれているマレイミド類を *tert*-ブチルジメチルシリル誘導体に変換後 GC-MS 分析を行っている。また, その解析には標品として, ETIO-III とオクタエチルポルフィリンのクロム酸酸化生成物を用いているため, 検出された化合物は同定のみであり, 定量までには至っていない (図 I-8)。一方, 当研究室では, 合成標品との比較により同定・定量を行っているため, 有機溶媒洗浄した堆積物試料 (結合態分子が対象), あるいは堆積物試料の有機溶媒による直接抽出物 (遊離態分子が対象) を, クロム酸酸化して有機溶媒で抽出するだけで, カラムなどの精製や誘導化を必要とすることなく GC-MS 分析を可能にしている。すなわち, 標品との比較による解析法は, 他の方法に比べ簡便に定量分析できる手法である。ただし, クロム酸酸化法は酸化反応の収率が不明であるために試料中のそれらの正確な濃度を求めることはできない。そこで, 当研究室では, このような得られたデータから化合物の様々な比を求め, その深度分布の傾向や特徴から読み解くことによって古環境解析を行っている。

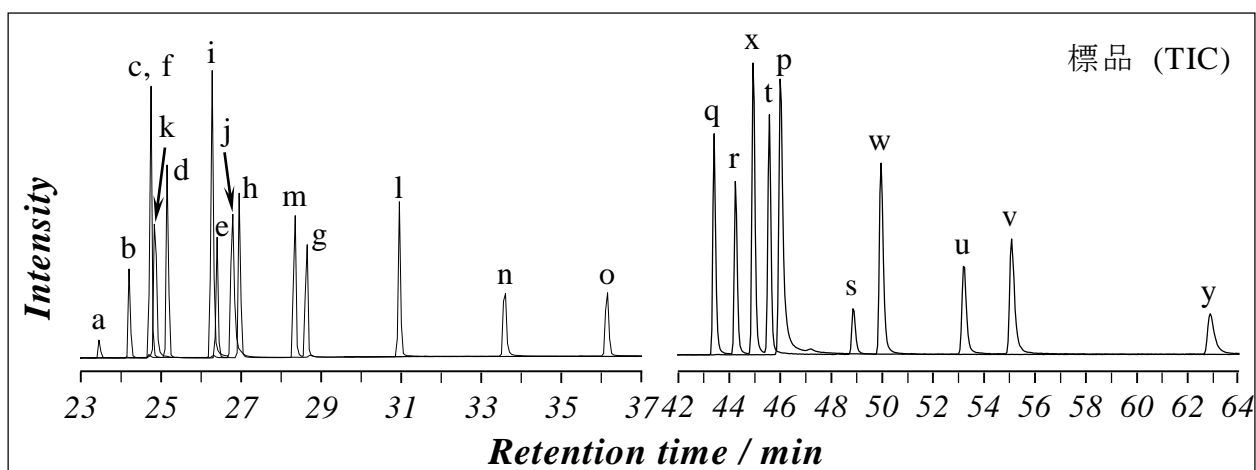
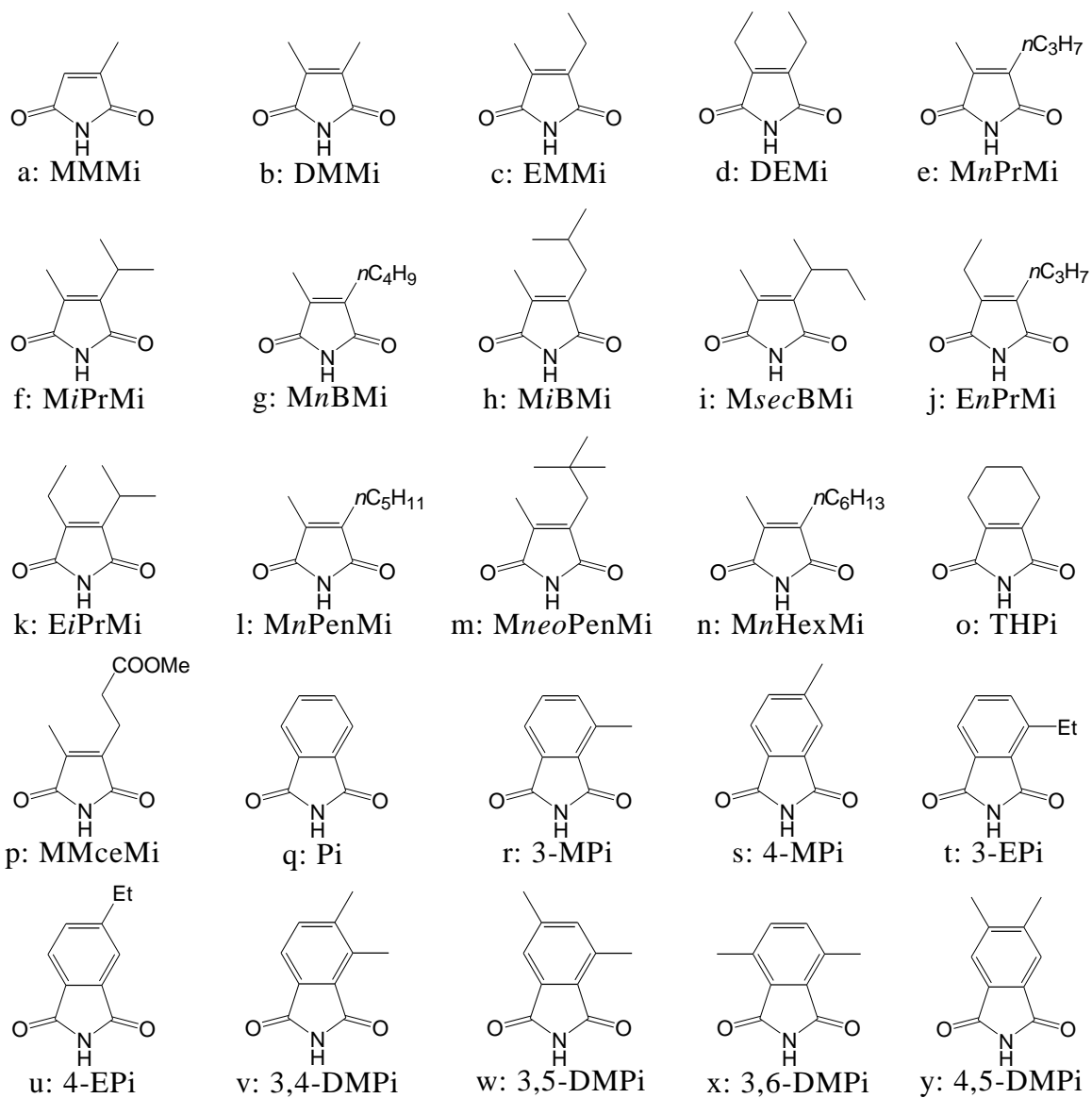


図 I-8. マレイミド類およびフタルイミド類の標準物質とクロマトグラム

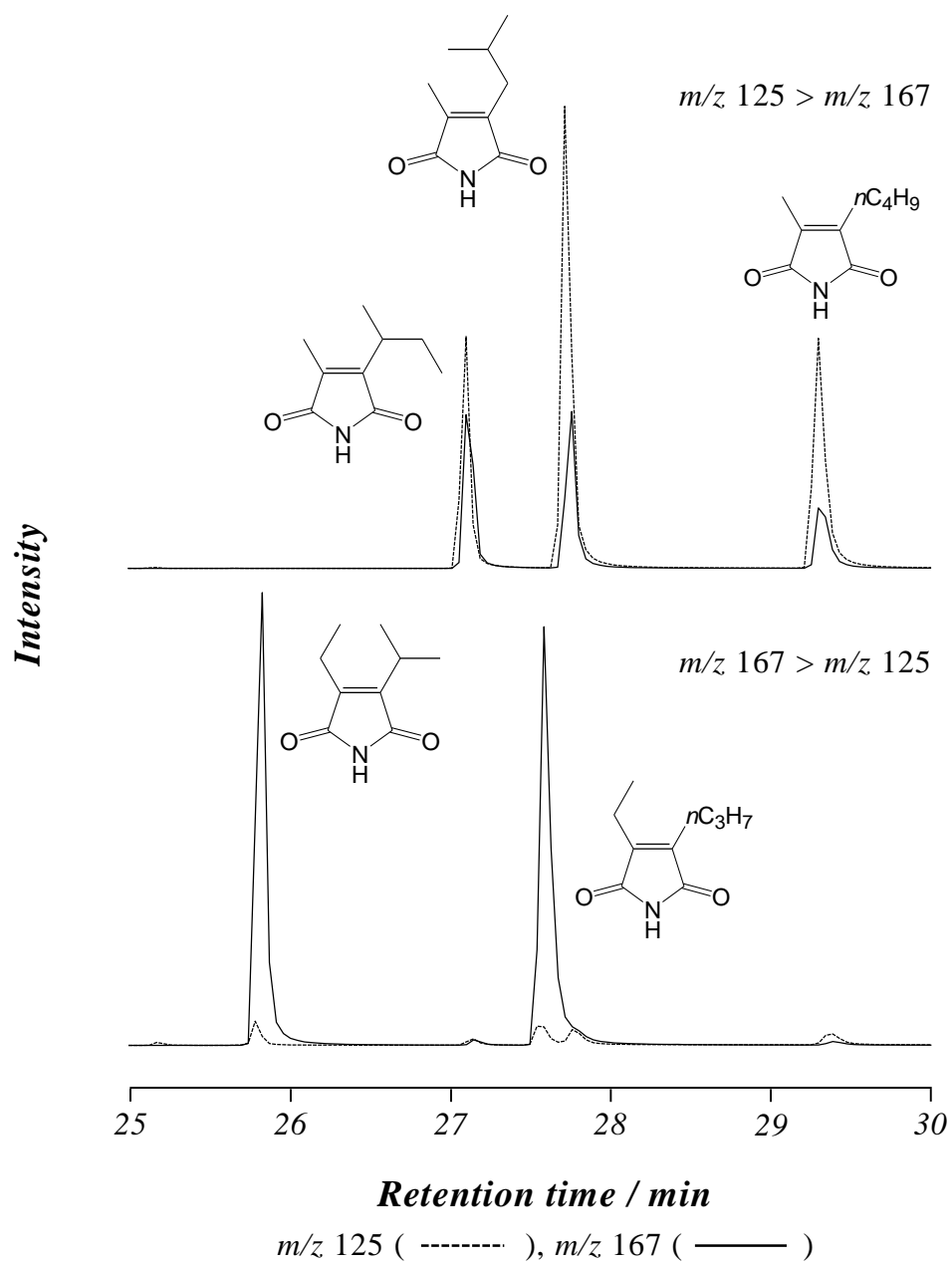


図 I-9. C<sub>9</sub> マレイミドのガスクロマトグラム質量分析の特徴

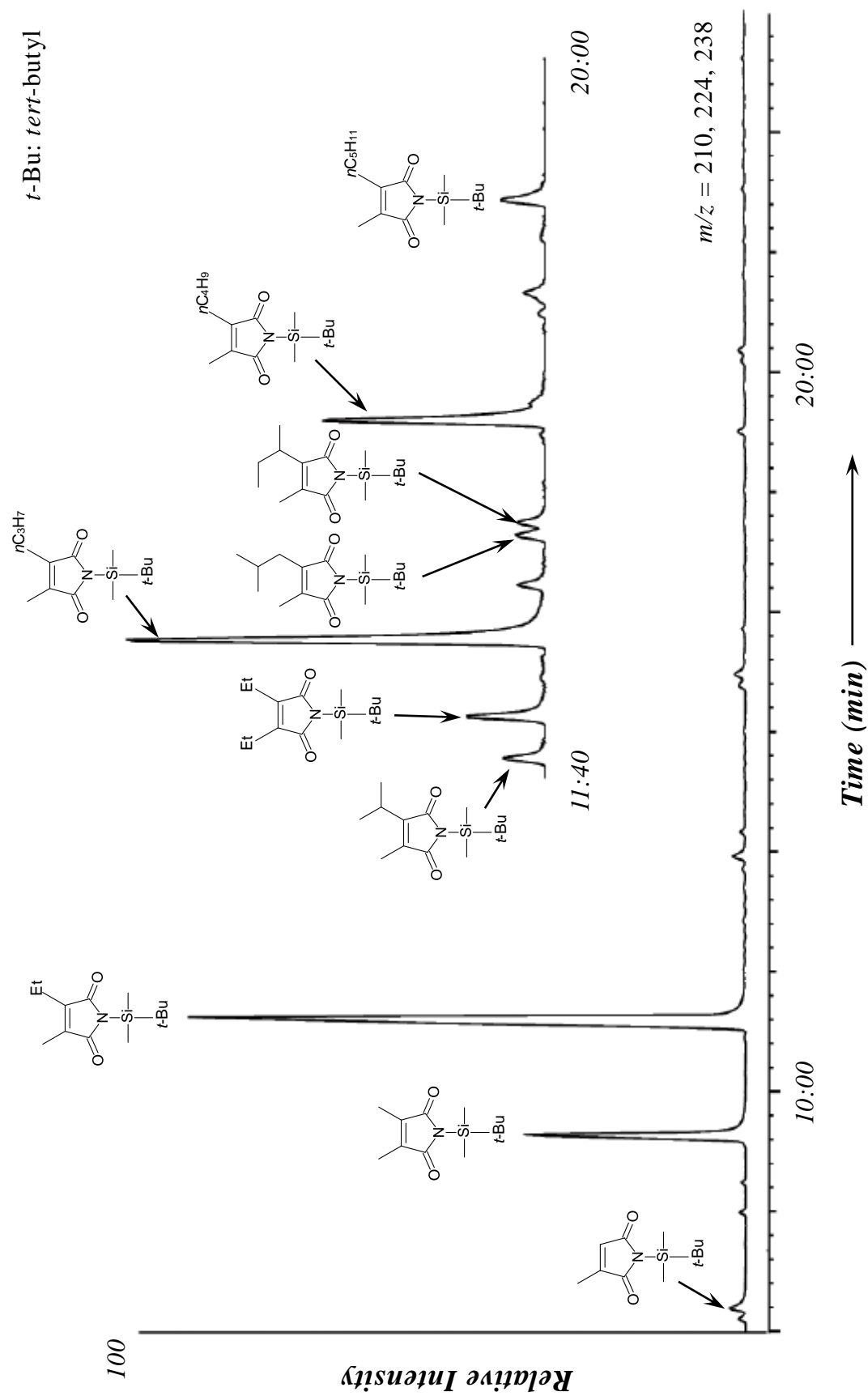


図 I-10. Northern Permian Basin コア試料 (3035.08 m) から抽出された

## I-6. 遊離態および結合態マレイミド類・フタルイミド類

堆積物中に存在するクロロフィル類由来物質は、上述した遊離態および結合態地層ポルフィリン類の他に、堆積前に植物自体の新陳代謝と光酸化によってクロロフィルが分解された産物である遊離態マレイミド類やその続成変化産物と考えられる遊離態フタルイミド類も現世や太古の堆積物から見出されている (Kozono *et al.*, 2002; Nomoto *et al.*, 2014)。また、上記のようなマレイミド類やフタルイミド類がケロジェンに強く保持され、抽出不可能な結合態分子も存在するはずであるが、報告例はまだない。結合態という名称は本来これらに用いるべきであり、厳密には異なるのであるが、本稿では、**I-4** で述べた結合態地層ポルフィリンからクロム酸酸化によって得られるマレイミド類・フタルイミド類を結合態マレイミド類・結合態フタルイミド類と呼ぶ (図 I-5)。

## I-7. 本研究の目的

本研究では、地層ポルフィリンのクロム酸酸化生成物である結合態マレイミド類・フタルイミド類の組成比などを利用した堆積物中の有機物の熱熟成度指標の評価および新たな熱熟成度指標の提案や海洋無酸素事変の分子的証拠などの古環境解析に役立つツールと成り得る新たな指標の提案を目的とした。本稿は、第 II 章では、堆積岩をクロム酸酸化して得られるマレイミド類とフタルイミド類はクロロフィル由来物質であることの化学的証明、第 III 章では、地層ポルフィリンの脱メチル化指標を用いた熱熟成度の評価、第 IV 章は、結合態フタルイミド/マレイミド比を用いる堆積物中の有機物の新しい熱熟成度指標、第 V 章は、北海道留萌地域の結合態マレイミド類を用いる後期白亜紀の海洋無酸素事変の分子的証拠について検討した。詳細は、各章で述べるが、現在、石油探査などに用いられている標準的な熱熟成度指標としてビトリナイト反射率 ( $R_o$ ) が有る。しかし、ビトリナイト反射率 ( $R_o$ ) を求めるには多くの時間や手間のかかる操作を必要としているため、簡便な熱熟成度指標が求められている。太古に起こった生物界大量絶滅の原因として注目が集められている海洋無酸素事変の分子的証拠の提案は、その時代の海洋における大規模な酸素欠乏が発生していたか否かの事実を化学的根拠に基づいて明確にする新たなツールとなり得るため、全生態系に関わる環境変動の歴史を知る上で大きな意義を有する。



## 第 II 章

堆積岩をクロム酸酸化して得られる  
マレイミド類とフタルイミド類は  
クロロフィル由来物質である

## 第 II 章

### 堆積岩をクロム酸酸化して得られるマレイミド類と フタルイミド類はクロロフィル由来物質である

#### II-1. 序論

I 章でも述べたが、様々な地質学的試料中には光合成生物が保有するクロロフィル類のバイオマーカーである遊離態地層ポルフィリン類（例えば、Treibs, 1936）や遊離態マレイミド類・フタルイミド類が含まれている。この遊離態マレイミド類と遊離態フタルイミド類は、植物の代謝・酸化によって生成する EMMi が続成変化したものであると考えられている（Kozono *et al.*, 2002; Nomoto *et al.*, 2014）。また、地層試料から抽出・精製された遊離態地層ポルフィリンのクロム酸酸化生成物からは、それらの側鎖構造を残したマレイミド類やフタルイミド類が検出されており（図 II-1, Barwise *et al.*, 1980; Martin *et al.*, 1980）、これらもクロロフィル由来物質である。一方で、有機溶媒洗浄によって遊離態分子を除いた堆積岩試料を直接クロム酸酸化して有機溶媒抽出したサンプルにも I-6 で述べた結合態マレイミド類とフタルイミド類が含まれている（例えば、Nomoto *et al.*, 2010）。第 II 章では、この結合態マレイミド類と結合態フタルイミド類がクロロフィル由来物質であることを化学的に証明することを目的として、北海道留萌地域の堆積岩試料を用いて、その不溶性成分からクロム酸酸化によって得られる結合態マレイミド類と結合態フタルイミド類の分析を行った。また、クロロフィル類のモデル化合物として ETIO-III（図 I-6）を基質として加熱後、堆積岩分析同様にクロム酸酸化して分析を行い、堆積岩中及び加熱実験生成物中のマレイミド類とフタルイミド類の分子分布、深度或いは加熱時間に対して側鎖が、直鎖へ伸長する程度、脱メチル化する程度、芳香族化する程度を比較した。

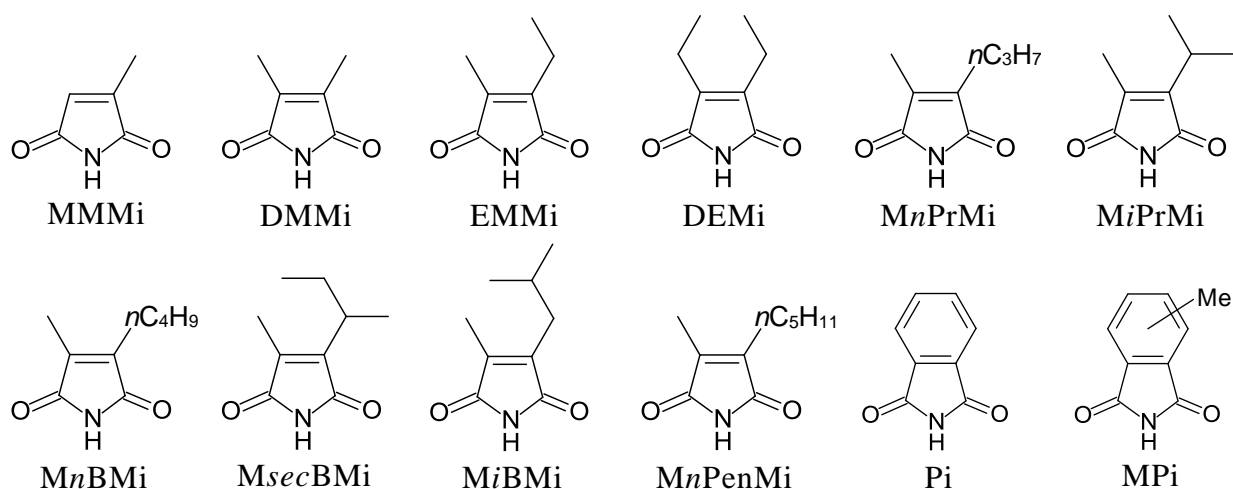


図 II-1. 原油から抽出された遊離態地層ポルフィリンのクロム酸酸化生成物中のマレイミド類とフタルイミド類 (Barwise *et al.*, 1980; Martin *et al.*, 1980)

## II-2. 実験手法

### II-2-1. 試料

本研究では、代表的な堆積岩試料として、北海道留萌地域の昭和 61 年基礎試錐 (白亜紀 ~ 新第三紀; 700 ~ 4510 m) の 8 試料を用いた。これは、独立行政法人・金属鉱物資源機構より供与されたカッテングス試料である。堆積岩試料の詳細については、第 III 章にて述べたい。加熱実験に用いる基質は、着目する部位を明確にするために、シンプルな構造である必要がある。そこで、クロロフィル類のモデルポルフィリンとして市販の ETIO-III を加熱実験の基質に用いた。

### II-2-2. 堆積岩の分析

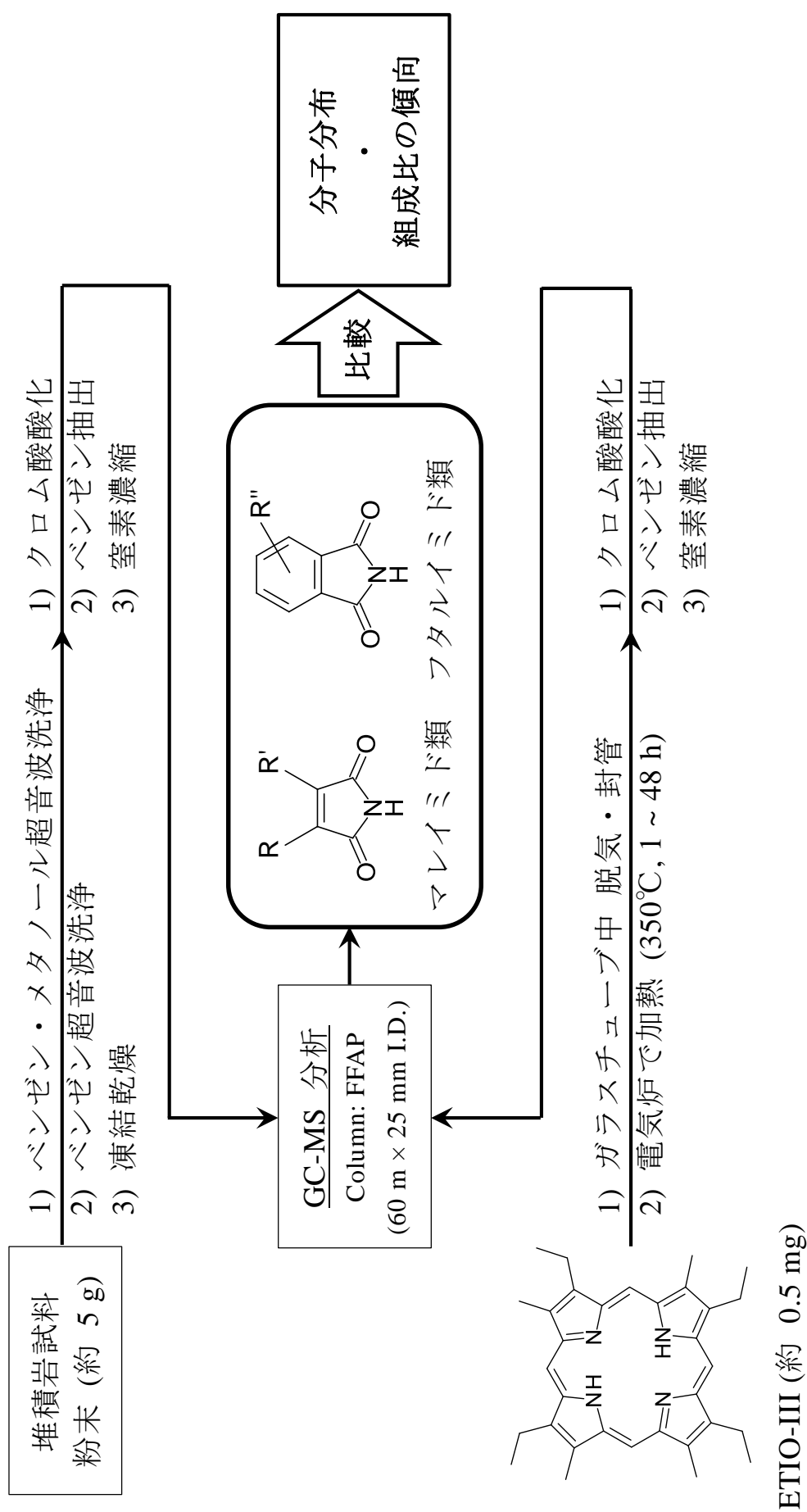
堆積岩の分析 (式 II-1) は、堆積岩試料の粉末約 5 g を遠沈管に取り、ベンゼン : メタノール (4 : 1 v/v) 10 mL を加えて 10 分間超音波洗浄を行い、続いて 5 分間遠心分離後、上澄みを取り除く操作を 5 回行った。最後に、ベンゼン 10 mL を加え、10 分間超音波洗浄後、5 分間遠心分離して上澄みを取り除き、洗浄した試料を凍結乾燥した。この試料に 25 vol% 硫酸水溶液 5 mL と 10 wt% クロム酸水溶液 5 mL を加えて 0°C で 2 時間攪拌後、さらに室温で 2 時間攪拌を行った。この反応溶液をベンゼン 10 mL で 5 回抽出し、有機相を無水硫

酸マグネシウムで乾燥後、精製することなく、窒素気流下で 100  $\mu$ L まで濃縮した (Shimoyama et al., 2001; Nomoto and Kigoshi, 2005; Yota and Nomoto, 2014a, b)。

分析は、ガスクロマトグラフ-質量分析計 (GC-MS) を使用し、ガスクロマトグラフィーには FFAP FS-WCOT 化学結合キャピラリーカラム (0.25 mm I.D.  $\times$  60 m, 膜厚 0.25  $\mu$ m) を用いた。濃縮溶液のうち 1  $\mu$ L をスプリットレスタイプの導入口に注入した。オーブンの昇温条件などの詳細は「第 VI 章 実験の部」にて記す。マレイミド類とフタルイミド類の同定・定量は I-4 (図 I-6) に示した 16 種類のマレイミド類 (MMMi, DMMi, EMMi, DEMi, MnPrMi, MiPrMi, MnBMMi, MiBMMi, MsecBMMi, EnPrMi, EiPrMi, MnPenMi, MneoPenMi, MnHexMi, THPi, MMceMi) と 9 種類のフタルイミド類 (Pi, 3-MPi, 4-MPi, 3-EPi, 4-EPi, 3,4-DMPi, 3,5-DMPi, 3,6-DMPi, 4,5-DMPi) を標品として使用して、それらの、マススペクトルとリテンションタイムとの比較により行った。

### II-2-3. 加熱実験

加熱実験 (式 II-1) は, ETIO-III (約 0.5 mg) をガラスチューブに入れ、減圧・封管した後、電気炉で加熱した (350  $^{\circ}$ C, 1~48 時間)。加熱後、室温まで放冷して堆積岩の分析同様に、クロム酸酸化後ベンゼン抽出し、有機相を無水硫酸マグネシウムで乾燥して、特に精製することなく、窒素気流下で濃縮後、こちらも堆積岩の分析同様に GC-MS 分析を行った (Shimoyama et al., 2001; Kozono et al., 2002; Nomoto and Kigoshi, 2005; Asahina and Nomoto, 2012)。なお、加熱実験では、ポルフィリンを封管中で加熱すると、大部分が不溶性の高分子状物質に変化するため、クロム酸酸化法を用いている。



式 II-1. 堆積岩分析および加熱実験の作業手順

## II-3. 結果と考察

### II-3-1. 堆積岩酸化性抽出物及び加熱実験生成物の分子分布の比較

堆積岩酸化性抽出物中および ETIO-III の加熱実験生成物中のマレイミド類とフタルイミド類の分子分布をそれぞれのクロマトグラムより比較した (図 II-2, 3, 標品; 図 I-8)。その結果, 堆積岩酸化性抽出物中および ETIO-III の加熱実験生成物中のマレイミド類とフタルイミド類の分子分布が一致した。加熱実験の結果より, エチルメチルピロールだけで構成された ETIO-III を基質としていることから, エチルメチル側鎖は, 図 II-3 で示されるマレイミド類, フタルイミド類を熱変質により形成するのは明らかである。それぞれのマレイミド類, フタルイミド類の生成量と濃度には差が見られるものもあるが, それは加熱実験には添加していない鉍物触媒或いは水などの構成要素の差やエチルメチル側鎖以外のポルフィリン類が持つ側鎖に起因していると考えられる。しかし, そのことを踏まえても分子分布が一致していることから, 結合態マレイミド類と結合態フタルイミド類はクロロフィル由来物質である可能性が高い。さらに, EMMi を生成, 或いはエチルメチルピロール骨格をもつ天然物はクロロフィル類以外には無いこともこの可能性を支持する。

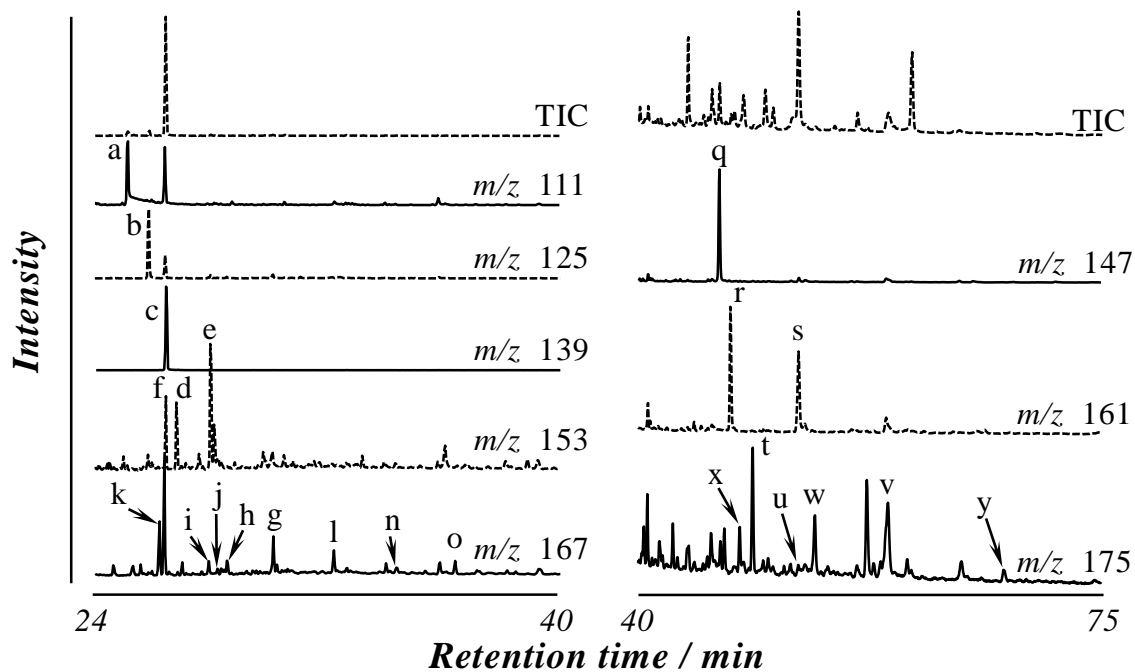


図 II-2. 留萌地域基礎試錐堆積岩 (2300 m) 酸化性抽出物の  
ガスクロマトグラム

図中の英小文字 (a, b, c … y) は 図 I-8 と同じである

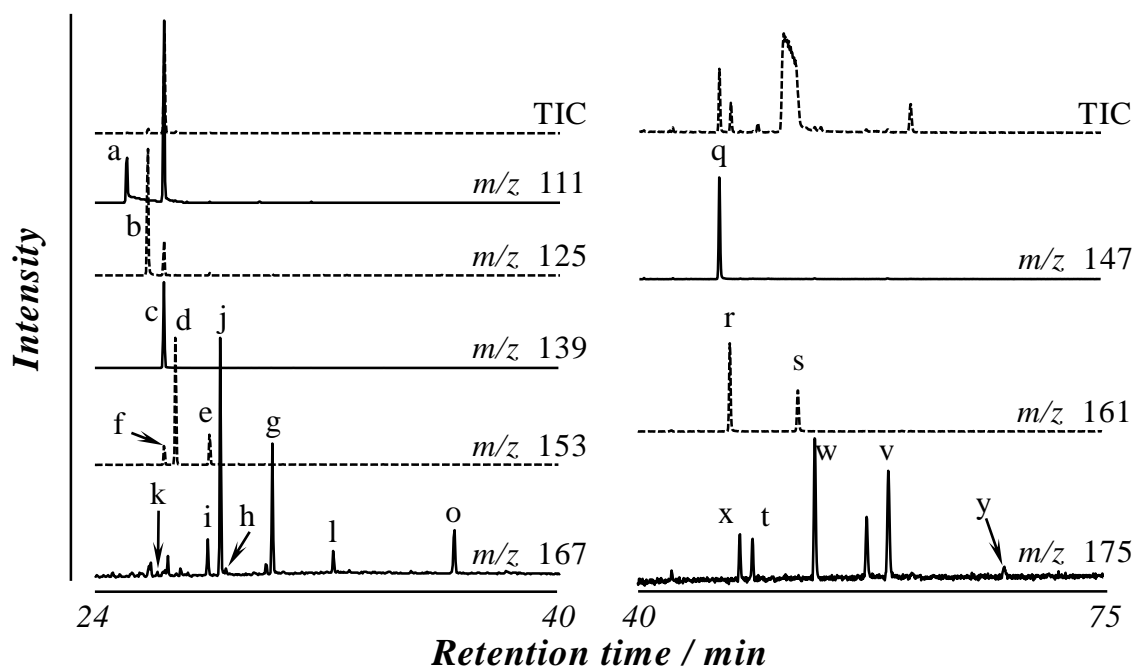


図 II-3. ETIO-III の加熱実験 (350 °C, 48 h) 生成物のガスクロマトグラム

図中の英小文字 (a, b, c … y) は 図 I-8 と同じである

### II-3-2. 堆積岩酸化性抽出物及び加熱実験生成物の組成比の傾向の比較

堆積岩中の結合態マレイミド類と結合態フタルイミド類がクロロフィル由来物質である可能性をさらに明確にするために、堆積岩酸化性抽出物および加熱実験生成物の組成比からアルキル側鎖の直鎖に伸長する程度 (総 *n*-アルキルマレイミド類 / 総マレイミド類), エチル側鎖の脱メチル化の程度 (DMMi / (DMMi + EMMi); D.I. 値, 詳細は第 III 章), アルキル側鎖が芳香族化する程度 (総フタルイミド類 / (総フタルイミド類 + 総マレイミド類); 芳香族化指標, 詳細は第 IV 章) を求め, それぞれの傾向を比較した。その結果 (図 II-4 ~ 6), 全ての組成比が共に調和的な傾向を示した。このことは, クロロフィル類のエチルメチルピロール部位が堆積岩中, 加熱実験共に同様な反応機構で熱変質していることを示していると考えられる。また, 組成比の程度, すなわち, 反応速度に差が見られるのは, II-3-1 で述べたように, 堆積物中と加熱実験中の鉱物触媒などの構成要素に起因すると考えられる。しかし, 分子分布が一致し, 組成比の傾向が調和的であり, クロム酸酸化でマレイミド類とフタルイミド類を生成し得るソース物質はポルフィリン以外にないことから, 結合態マレイミド類と結合態フタルイミド類がクロロフィル由来物質であることが化学的に矛盾することなく説明できるため, 洗浄した堆積岩をクロム酸酸化して得られる結合態マレイミド類と結合態フタルイミド類はクロロフィルに由来する結合態分子, すなわち, クロロフィル類のバイオマーカーであるという結論に至った。

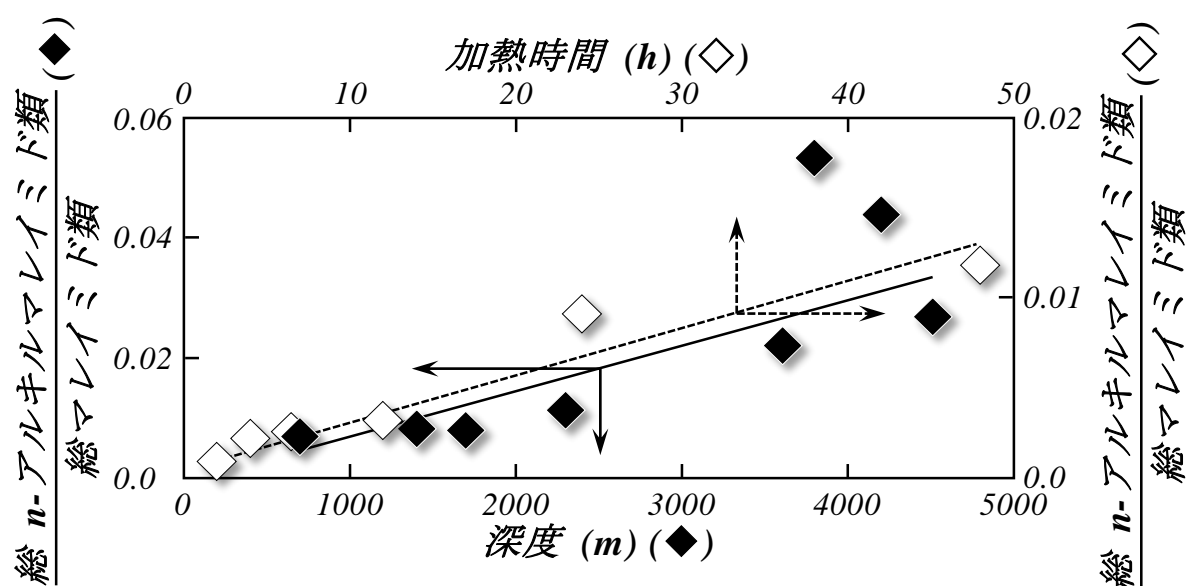


図 II-4. 堆積岩中および ETIO-III の加熱実験 (350℃) 中の深度  
或いは加熱時間に対するアルキ側鎖の直鎖へ伸長する程度



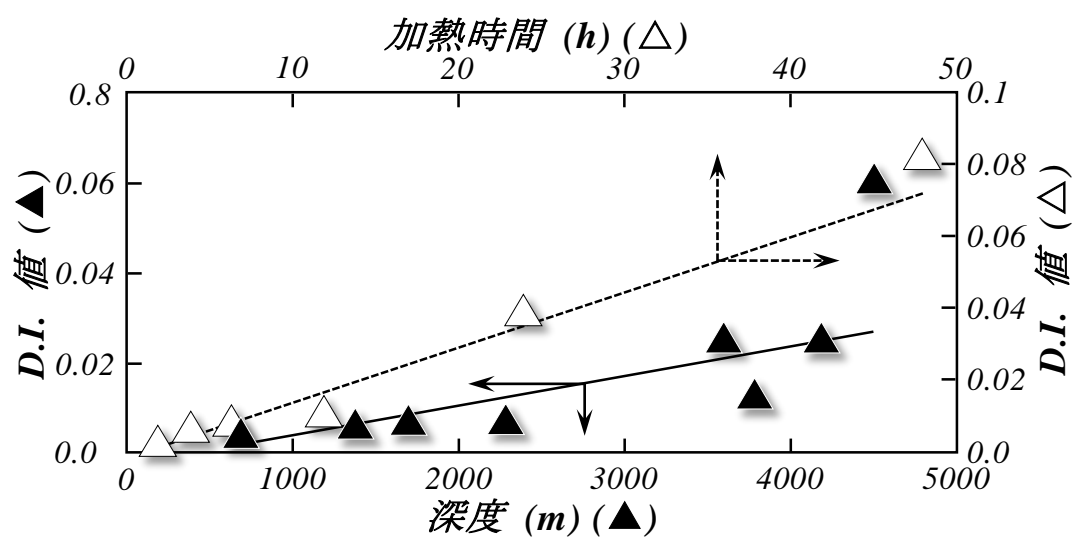


図 II-5. 堆積岩中および ETIO-III の加熱実験 (350°C) 中の深度或いは加熱時間に対するエチル側鎖の脱メチル化の程度

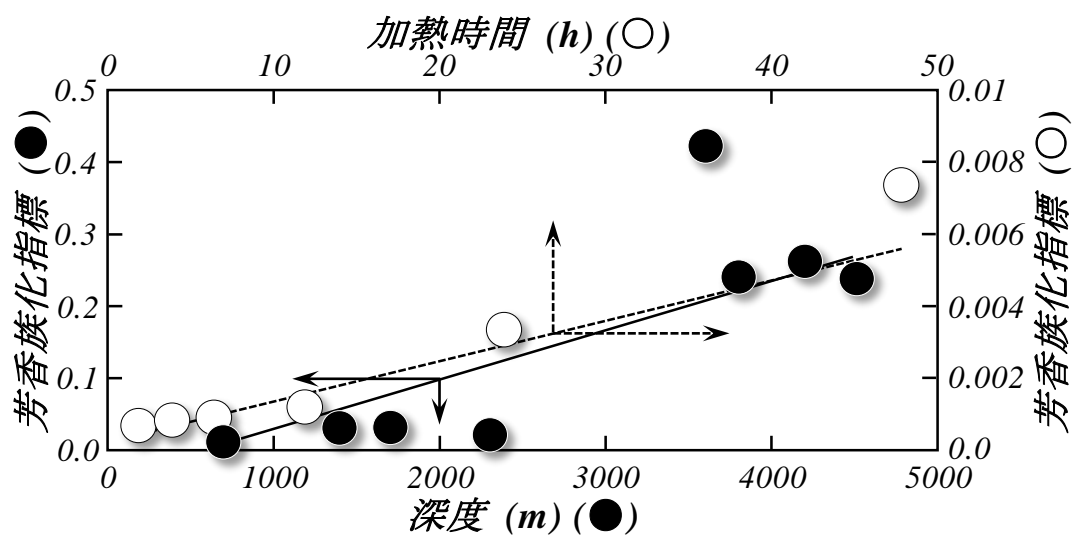


図 II-6. 堆積岩中および ETIO-III の加熱実験 (350°C) 中の深度或いは加熱時間に対するアルキル側鎖の芳香族化の程度

#### II-4. 第 II 章のまとめ

第 II 章では、洗浄して遊離態分子を除いた堆積岩をクロム酸酸化して得ることが出来る結合態マレイミド類と結合態フタルイミド類がクロロフィル由来物質であることを化学的に証明するため、堆積岩分析とクロロフィル類のモデルポルフィリンとして ETIO-III の加熱実験を行い、その生成物中のマレイミド類とフタルイミド類の分子分布の比較とそれらの組成比からアルキル側鎖の直鎖に伸長する程度 (総 *n*-アルキルマレイミド類 / 総マレイミド類), エチル側鎖の脱メチル化の程度 ( $\text{DMMi} / (\text{DMMi} + \text{EMMi})$ ; D.I. 値), アルキル側鎖が芳香族化する程度 (総フタルイミド類 / (総フタルイミド類 + 総マレイミド類); 芳香族化指標) を求め、比較した。その結果、堆積岩酸化性抽出物および ETIO-III の加熱実験生成物中のマレイミド類とフタルイミド類は分子分布が一致し、上述した組成比の傾向が調和的であった。以上のことに加え、クロム酸酸化によってマレイミド類とフタルイミド類を生成しうるソース物質はポルフィリン類以外には無いことから、堆積岩中の結合態マレイミド類と結合態フタルイミド類は、クロロフィルのバイオマーカーであるという結論に至った。これらの結合態分子は、特に精製することなく堆積岩を洗浄後、直接酸化・抽出して分析することが出来るので、比較的簡便にクロロフィル由来物質の分析することが出来るツールとなる。さらに、結合態マレイミド類と結合態フタルイミド類は、一度洗浄してから得ているため、他の年代からの地層間の分子移動などといった汚染の影響の少ない地層固有性の高い値として用いることが期待できる。また、クロロフィル由来物質を用いた熱熟成度指標への利用やバクテリオクロロフィルに特徴的な側鎖やそれらが続成変化によって良く形成されるであろう側鎖に着目して解析することで、非酸素発生型光合成硫黄細菌などが大量に存在していた時代や地域を特定することが出来るポテンシャルを持つ。

## 第 III 章

### 地層ポルフィリンの脱メチル化指標を用いた 熱熟成度の評価

## 第 III 章

### 地層ポルフィリンの脱メチル化指標を用いた熱熟成度の評価

#### III-1. 序論

堆積物中の有機物の熱熟成度を知ることは、石油開発において、対象地域のボーリング調査した先に根源岩が有るか否かの評価などの知見を得るツールとなるため意味がある。現在、最も標準的な石油系炭化水素の存在性を判定する有機物の熱熟成度指標として、堆積物中の石炭化の程度を光の反射率として求めたビトリナイト反射率 (Reflectance in oil;  $R_o$ ) などがある (例えば, Teichmüller, 1971; Vassoyevich *et al.*, 1970; Hood *et al.*, 1974, 1975; 工藤, 1979)。この石油化作用が熱熟成度の指標に用いられる理由は、それが石油のように堆積物中を移動せず、その場所で温度と時間の影響を受けて不可逆的に進行するからである (平井, 1979)。しかし、ビトリナイト反射率 ( $R_o$ ) を求めるには下記に示す多くの手間を必要とするため、簡便な熱熟成度指標が求められている。すなわち, 1) 対象試料 (石炭や頁岩) を自然乾燥後 30 メッシュ以下に粉碎, 2) 比重分離 (四塩化炭素や臭化ナトリウム水溶液) やフッ化水素処理によるビトリナイトの分離・濃集, 3) 透明な合成樹脂上にマウント, 4) 粒子面を鏡面状に研磨, 5) 仕上げたサンプルを 20 ~ 50 倍の油浸系対物レンズを搭載した顕微鏡下で一定強度の単色光 (546  $\mu\text{m}$ ) を直角に入射させ、反射光の強度を測定 (サンプルを 0.5 mm 間隔で移動させながら 100 回行い、得られた測定値の算術平均値を用いる), 6) 反射率既知の標準試料と比較してビトリナイト反射率 ( $R_o$ ) を求める (図 III-1; 平井, 1979)。また、堆積物の熟成度について、石油が生成される段階を熟成帯と言いその上位、下位をそれぞれ未熟成帯、過熟成帯と言う。この石油の生成が始まる段階のビトリナイト反射率 ( $R_o$ ) はケロジェンタイプ (例えば, Hunt, 1995) によって多少異なるが、およそ 0.5 ~ 0.6 % であり, 0.9 ~ 1 % になると石油生成のピークを迎え, 1.2 ~ 2.0 % になると過熟成帯となり、コンデンセート或いはガスの生成が始まる。それ以上になると熱分解性のガスが生成されると言われている。

生体分子の続成変化に基づいた堆積物中の有機物の熱熟成度指標は、これまでに数多く提案されており、例えば、堆積岩中に存在するメチル又はジメチルナフタレン、フェナントレン同族体の異性対比 (例えば, Alexander *et al.*, 1984;

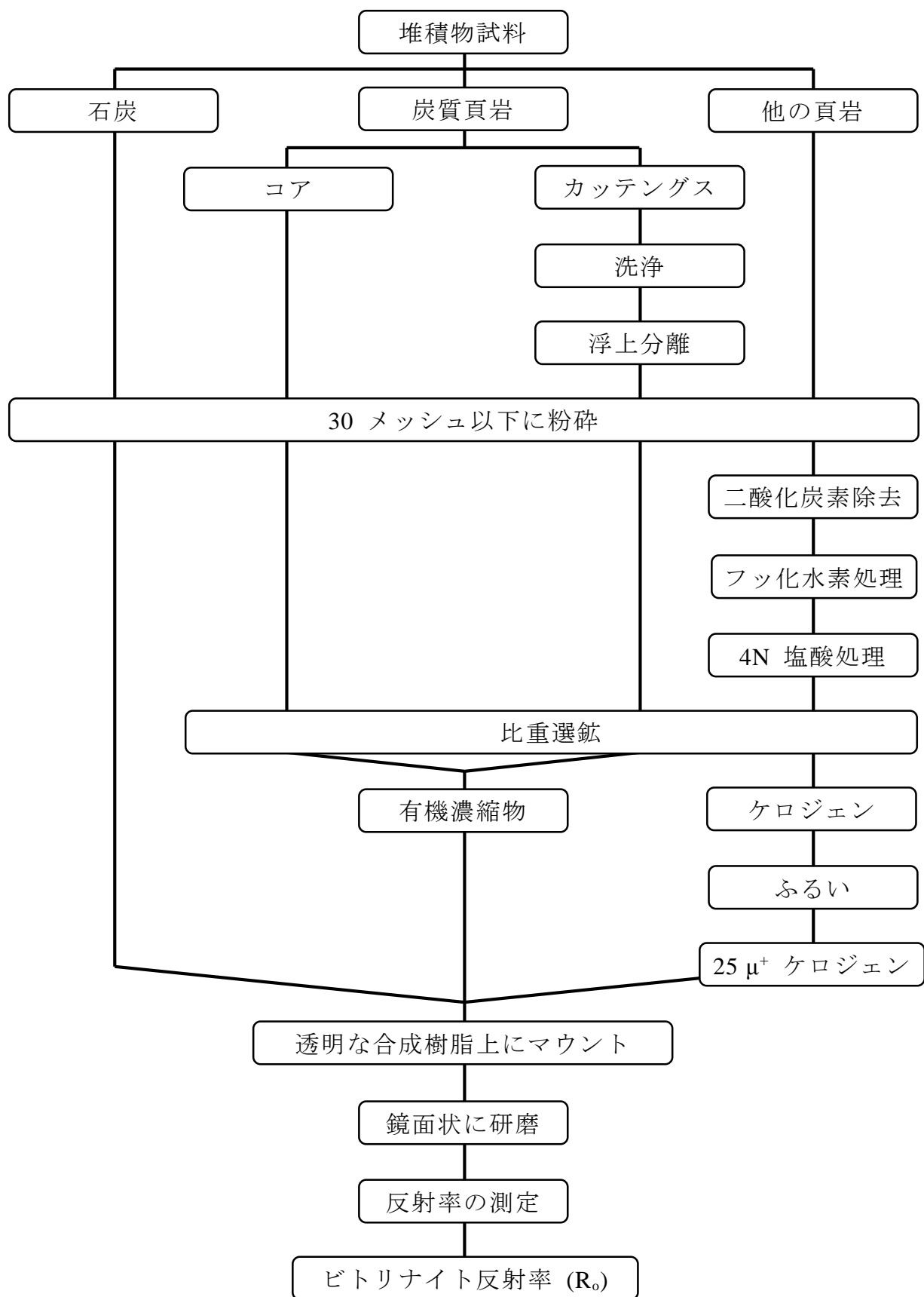
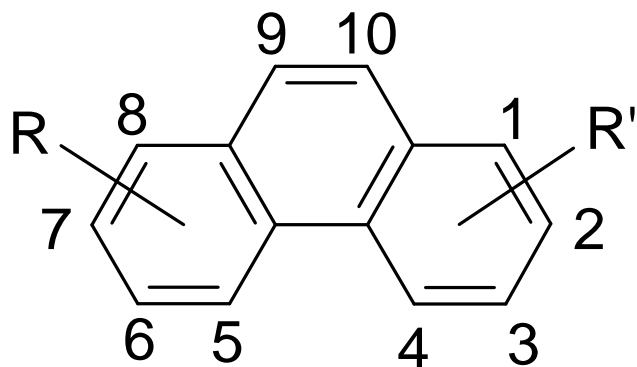
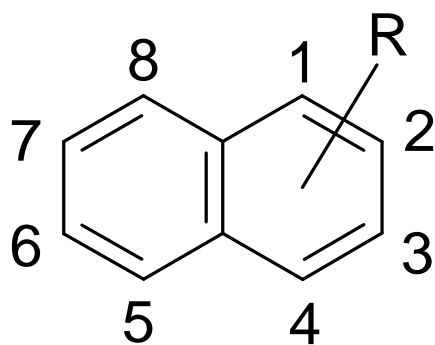


図 III-1. ビトリナイト反射率 ( $R_0$ ) 測定の作業手順 (平井, 1979)

Shimoyama *et al.*, 1994, 2000; Hagiwara *et al.*, 2000; Nomoto *et al.*, 2000) や CPI 値 (Carbon Preference Index) などが良く利用されている。メチルフェナントレンの異性体比は、メチルフェナントレンの 1-メチル体は、10 位の水素との立体的反発によって 2-メチル体よりも熱化学的に不安定であることを根拠に、1-/2-メチル異性体比を利用した熱熟成度指標である (図 III-2)。Hagiwara *et al.* (2000) によって、この指標はビトリナイト反射率 ( $R_o$ ) 1.3 % まで相関を示すことが報告されている。CPI 値とは、堆積物中に存在する偶数炭素脂肪酸がランダムな熱分解により、偶数炭素脂肪酸・*n*-アルカンと奇数炭素脂肪酸・*n*-アルカンの混合物に分解され、偶数炭素脂肪酸の脱炭酸により生じた奇数炭素 *n*-アルカンは、ランダムな熱分解を受けて奇数・偶数 *n*-アルカンに分解されていくため、堆積物中の脂肪酸・*n*-アルカンは熱熟成が進むにつれて奇数 / 偶数比が最終的に 1 に収束する現象を利用した堆積物中の奇数 / 偶数炭素脂肪酸比または奇数 / 偶数 *n*-アルカン比で表す指標であり式 III-1 から求められる。また、Taguchi *et al.* (1986) による新庄地域堆積岩の分析結果から、ビトリナイト反射率 ( $R_o$ ) が 0.6 % 程度で CPI 値はほぼ 1 に収束することが確認されている。また、地層ポルフィリン類を利用した熱熟成度指標も提案されており、DPEP 型バナジルポルフィリンと ETIO 型バナジルポルフィリンの比が時間と温度に依存することを根拠に、DPEP / ETIO-III 比を利用した指標も提案されている (図 III-3; 例えば, Sundararaman *et al.*, 1988)。

クロロフィル由来の地層ポルフィリン類の側鎖の情報を利用した熱熟成度指標として、脱メチル化指標が先行研究で提案されている (Nomoto *et al.*, 2001b)。脱メチル化指標とは、地層ポルフィリン中のエチルメチルピロール部位のエチル基が脱メチル化してメチル基を生じる割合を表した指標である。脱メチル化反応は、ポルフィリン側鎖のエチル基の炭素 - 炭素結合がアリル位に相当するために、他の結合に比べて結合開裂エネルギーが低いため切れやすいことに起因する (図 III-4)。この指標は、堆積岩のクロム酸酸化生成物中の DMMi と EMMi の濃度比 ( $DMMi / (DMMi + EMMi)$ ); 脱メチル化指標; Demethylation Index; D.I. 値) から求められる。下山らは、新庄地域堆積岩の分析結果 (Shimoyama *et al.*, 2001) より、この D.I. 値がビトリナイト反射率 ( $R_o$ ) と相関することを報告している (図 III-5)。この新庄地域堆積岩試料は、1980 年 8 月 29 日から 9 月 1 日に渡って山形県新庄盆地大芦沢ルートの露頭から昭和



R, R' = H or Me

ナフタレン同族体

フェナントレン同族体

図 III-2. メチル又はジメチルナフタレン・フェナントレン同族体比を用いた熱熟成度指標

$$\text{CPI}_L = \frac{\left[ \sum_{n=13}^{n=19} C_n (\text{奇数}) \right]}{\left[ \sum_{n=14}^{n=20} C_n (\text{偶数}) \right]}$$

L: 短鎖  $n$ -アルカン ( $C_{13} \sim C_{20}$ )

$$\text{CPI}_H = \frac{\left[ \sum_{n=21}^{n=33} C_n (\text{奇数}) \right]}{\left[ \sum_{n=22}^{n=32} C_n (\text{偶数}) \right]}$$

H: 長鎖  $n$ -アルカン ( $C_{21} \sim C_{33}$ )

式 III-1. CPI (Carbon Preference Index, 炭素数優位性指標)

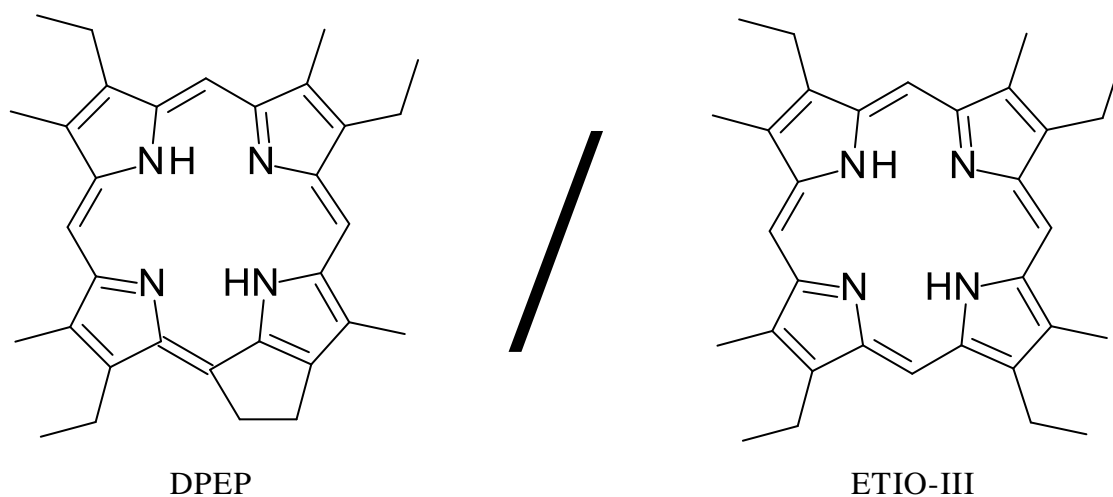


図 III-3. DPEP / ETIO-III 比を利用した熟成度指標

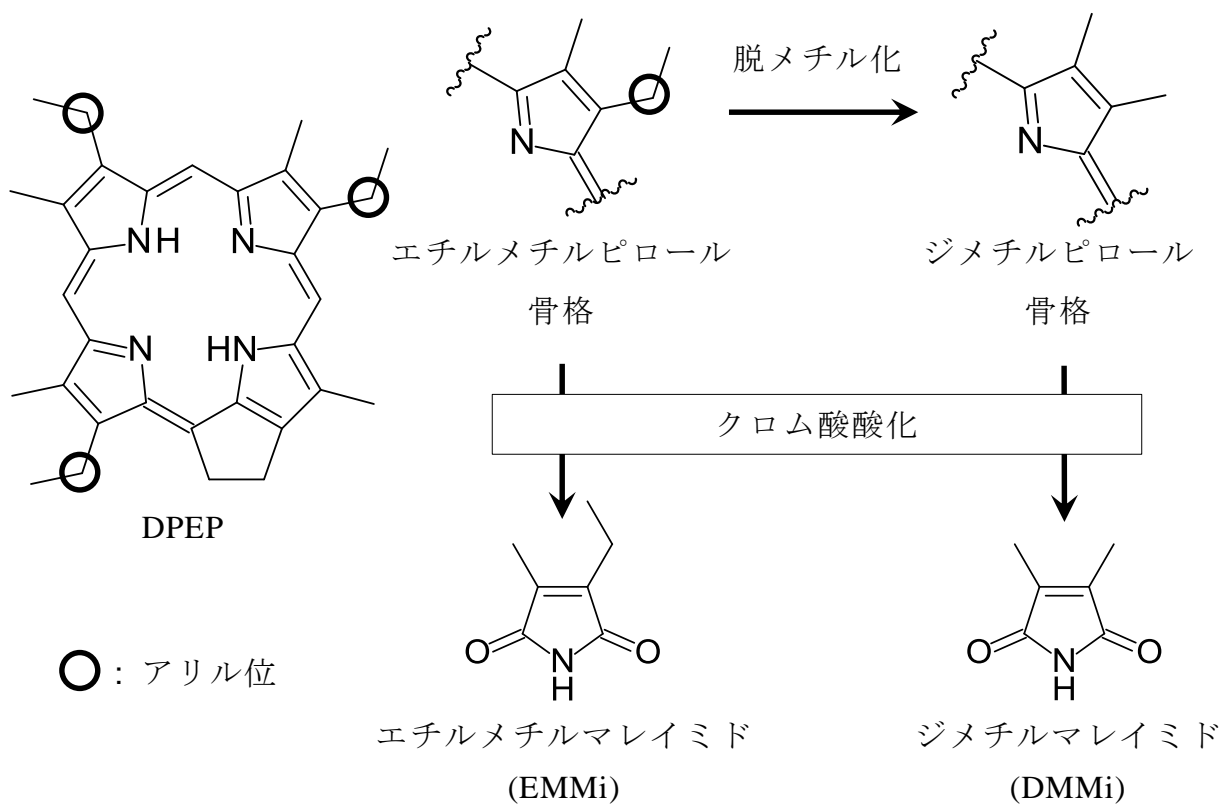


図 III-4. エチルメチルピロール骨格のエチル基の脱メチル化によるジメチルピロール骨格の形成



57 年度科学研究費補助金・総合研究 A の共通試料として採取されたものである。これらの試料は、下山・松葉谷 (1983) に報告されている下位から中新世の草薙層、古口層、野口層、中渡層からのものであり、試料番号 90105 から 83110 までの 18 個で、ビトリナイト反射率 ( $R_o$ ) が 0.4 ~ 0.8 % まで緩やかに熟成していく試料である。第 III 章では、D.I. 値の熱熟成度指標としての有効性を検討するためのデータ追加を目的として、堆積岩中の D.I. 値を測定し、ビトリナイト反射率 ( $R_o$ ) の深度分布と比較した。

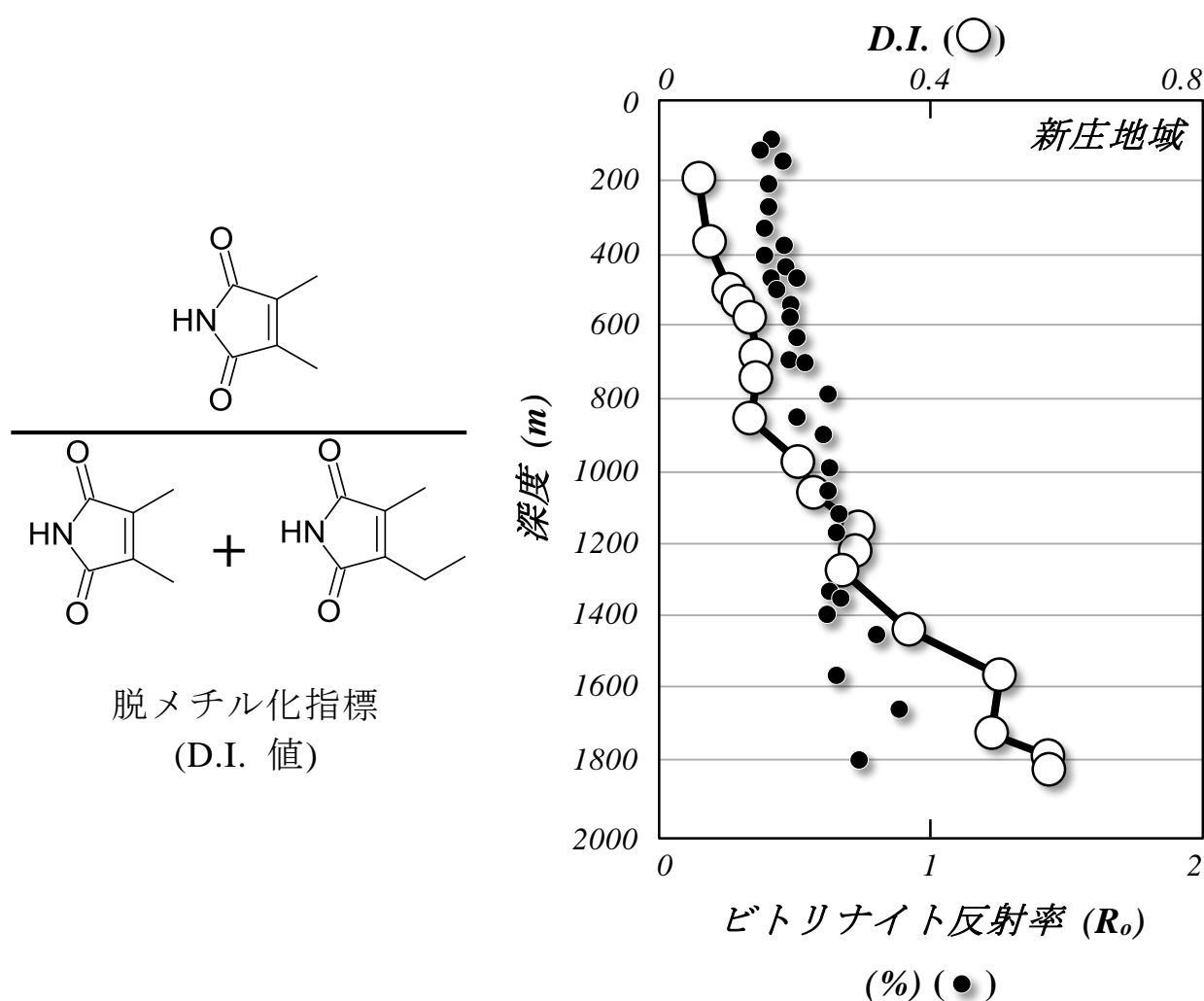


図 III-5. 脱メチル化指標と新庄地域堆積岩の分析結果 (Shimoyama *et al.*, 2001)

## III-2. 実験手法

### III-2-1. 試料

本研究では、下記に示す 3 箇所の地域の堆積岩試料を分析に用いた。これらは、独立行政法人石油天然ガス・金属鉱物資源機構より供与された。

#### 1) 北海道留萌地域の昭和 61 年基礎試錐

白亜紀 ~ 新第三紀 (700 m, 1400 m, 1700 m, 2300 m, 3600 m, 3800 m, 4200 m, 4510 m; 8 試料) からなる石油公団 (1986) に報告されている下位から中部蝦夷層群, 羽幌層, 三毛別層, 築別層, 古丹別層からのものであり, ビトリナイト反射率 ( $R_o$ ) 0.23 ~ 1.10 % まで深度の増加に伴って一貫した漸増傾向を示す試料である (図 III-6)。

#### 2) 福島県相馬沖地域の平成 2 年基礎試錐

白亜紀 ~ 新第三紀中新世 (900 m, 1100 m, 1700 m, 2700 m, 3000 m, 3300 m; 6 試料) からなる石油公団 (1991) に報告されている下位から A ~ F 層 (地層区分はあるものの名称無し) からのものであり, ビトリナイト反射率 ( $R_o$ ) 0.25 ~ 0.96 % まで深度に伴って漸増傾向を示す試料である (図 III-7)。

#### 3) 秋田県仁賀保地域の昭和 63 年基礎試錐

新第三紀中新世 ~ 第四紀更新世 (500 m, 900 m, 1500 m, 2100 m, 2400 m, 3100 m; 6 試料) からなる帝国石油 (1988) に報告されている下位から女川層, 船川層, 下部天徳寺層, 上部天徳寺層, 笹岡層からのものであり, 上記の試料より若い年代の堆積物が多く, ビトリナイト反射率 ( $R_o$ ) は, 0.23 ~ 0.37 % と熟成の幅も狭い試料である (図 III-8)。

また, これらの試料は何れもカッテングス試料である。

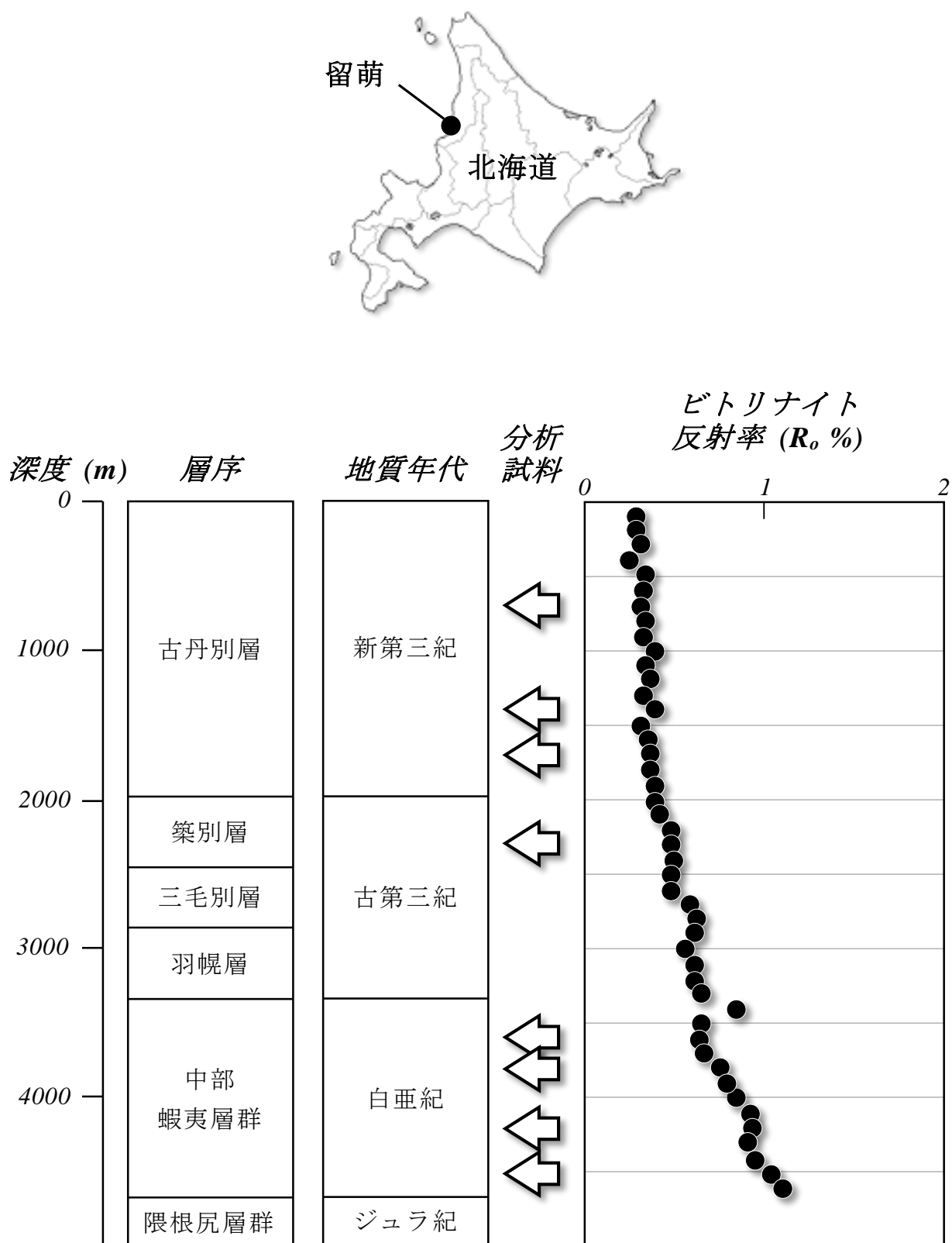


図 III-6. 留萌地域堆積岩のビトリナイト反射率 ( $R_o$ ) および分析試料

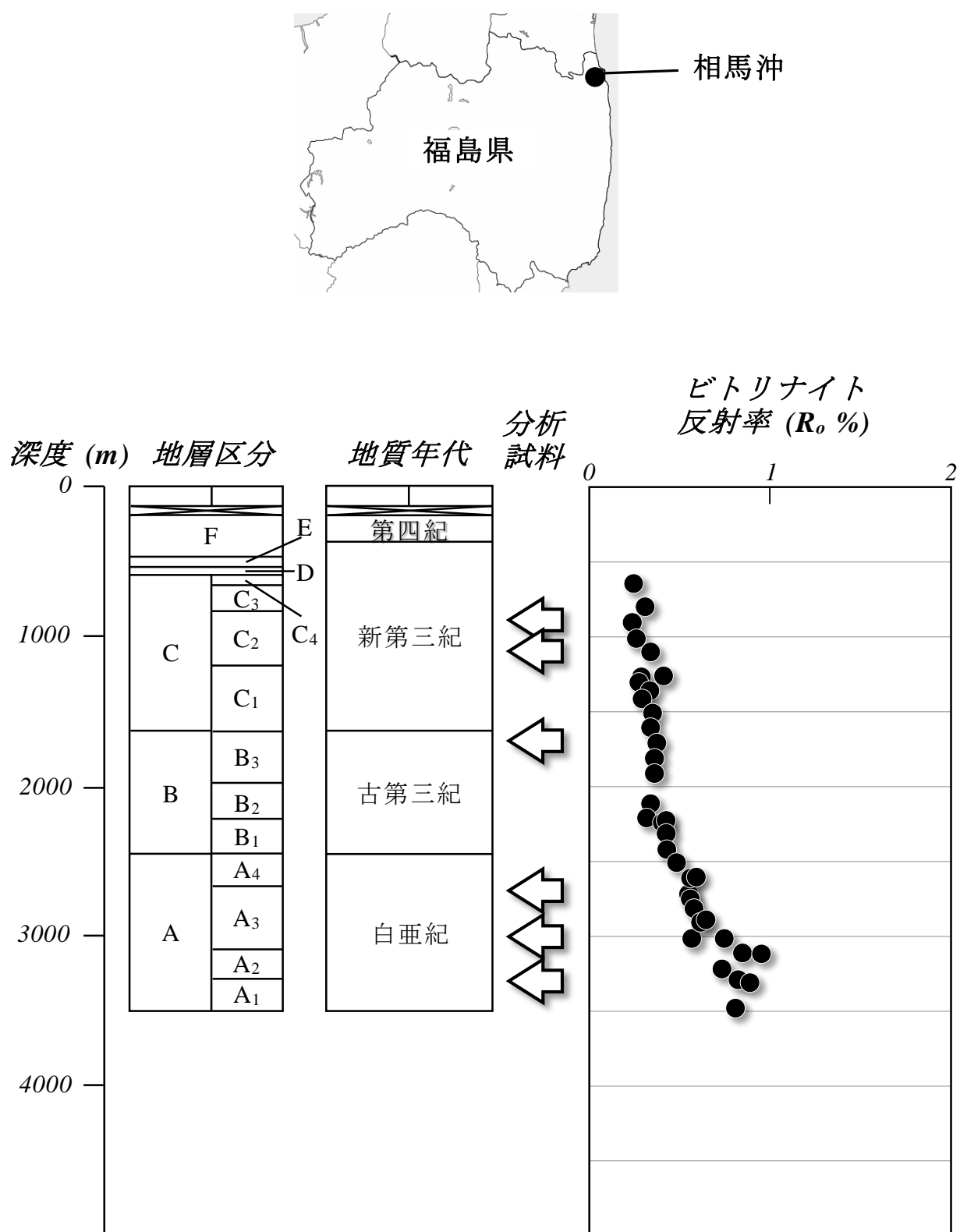


図 III-7. 相馬沖地域堆積岩のビトリナイト反射率 ( $R_o$ ) および分析試料

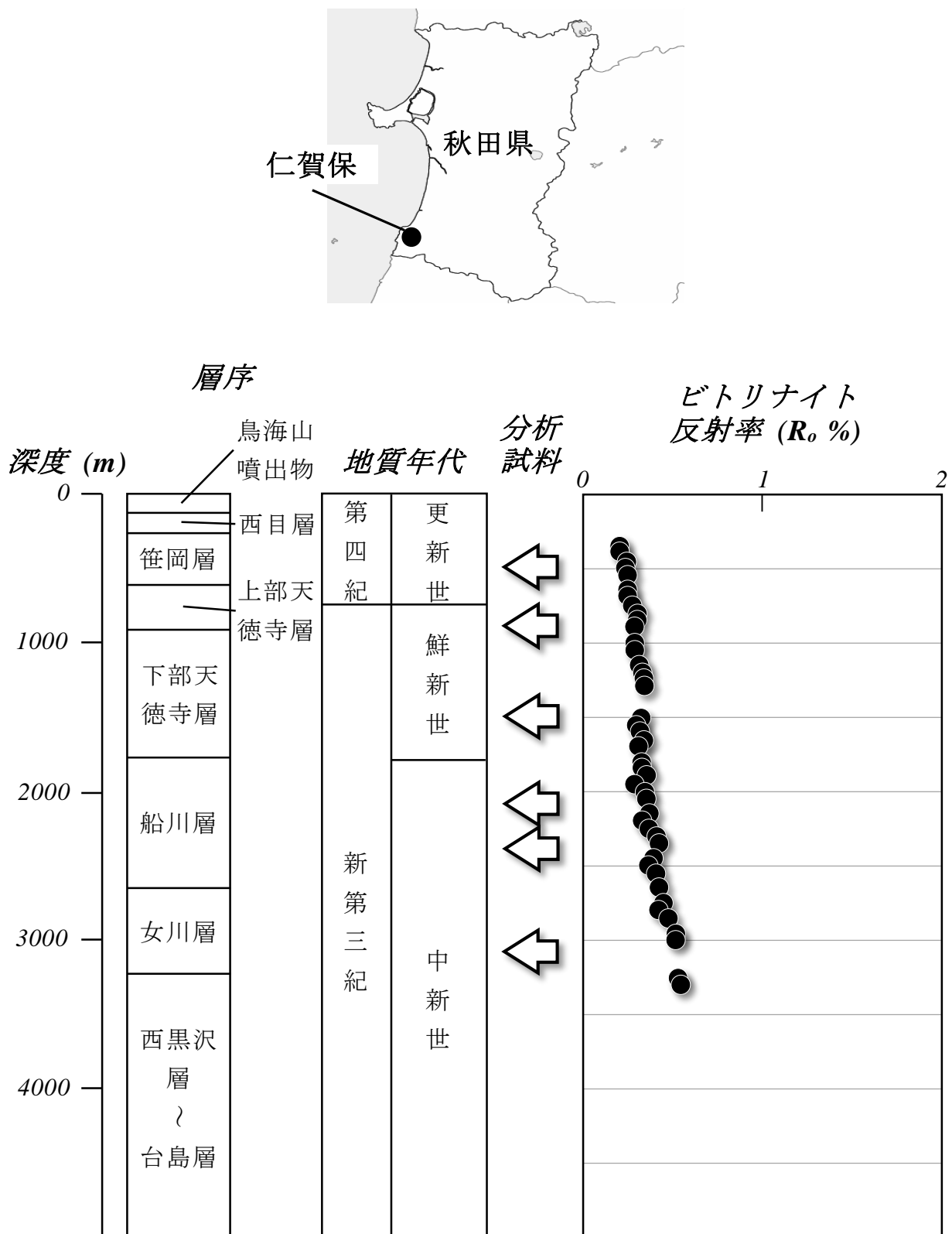
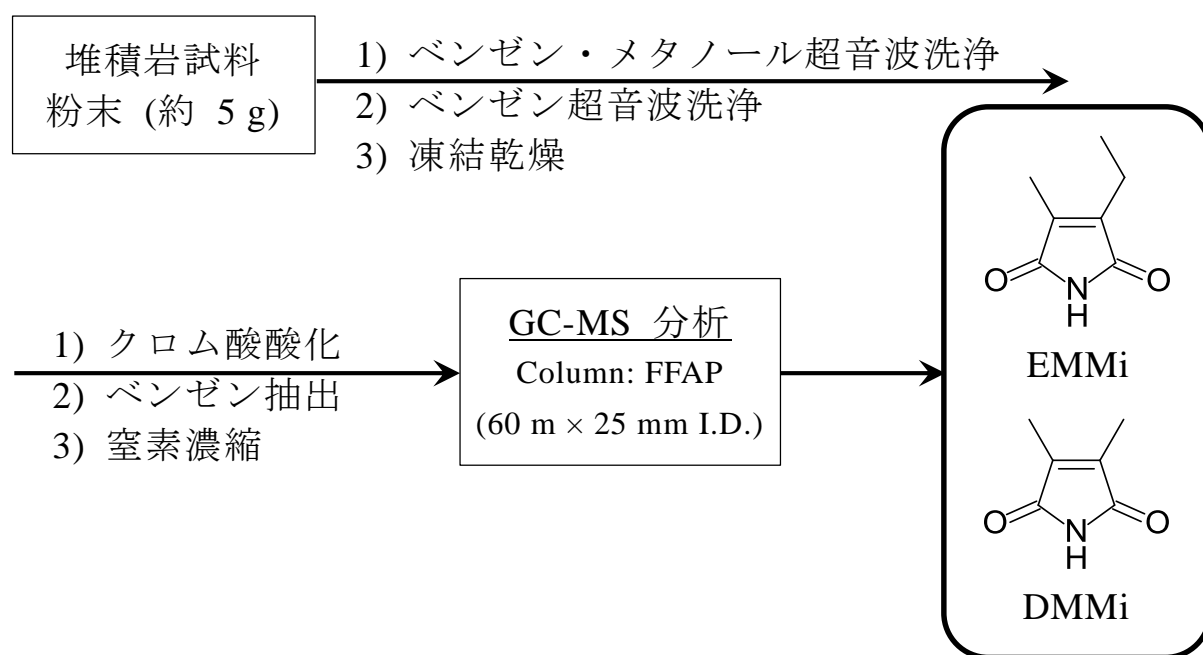


図 III-8. 仁賀保地域堆積岩のビトリナイト反射率 ( $R_o$ ) および分析試料

### III-2-2. 堆積岩の分析

堆積岩の分析は、II-2-2 と同様に行った。すなわち、各堆積岩試料の粉末（約 5 g）を、ベンゼン：メタノール（4：1 v/v）を用いて超音波洗浄を行い、続いて遠心分離後、上澄みを取り除く操作を 5 回行った。最後にベンゼンを加え、超音波洗浄し、遠心分離後上澄みを取り除き、洗浄した試料を凍結乾燥した。この試料に、25 vol% 硫酸水溶液：10 wt% クロム酸水溶液（1:1 v/v）を加え、0℃ で 2 時間攪拌後、さらに室温で 2 時間攪拌を行った。この反応溶液をベンゼンで 5 回抽出し、有機相を無水硫酸マグネシウムで乾燥後、窒素雰囲気下で濃縮した（式 III-2）。

分析に用いた機器や昇温条件なども II-2-2 と同様である。なお、DMMi と EMMi の同定・定量は標品のマススペクトルとリテンションタイムとの比較によって行った。



式 III-2. 結合態 DMMi および EMMi の分析の作業手順

### III-3. 結果と考察

#### III-3-1. ジメチルマレイミド・エチルメチルマレイミドの深度分布

堆積岩をクロム酸酸化して得られた DMMi, EMMi のクロマトグラムを図 III-9 に、実測値を表 III-1 に示す。尚、図 III-9 は EMMi のピークの高さを一律にして示したものであり、表 III-1 は、堆積岩試料 1 g 当たりの含有量 (pmol / g-rock) である。すべての採取地点において DMMi は深度の増加と共に EMMi に対する相対比が増加する一方で、EMMi は深度の増加と共に濃度が減少する傾向が見られた。

#### III-3-2. ジメチルマレイミド/エチルメチルマレイミド比と

##### ビトリナイト反射率

堆積岩中の D.I. 値とビトリナイト反射率 ( $R_o$ ) の深度分布 (図 III-10) から、今回分析した全ての採取地点において、ビトリナイト反射率 ( $R_o$ ) と D.I. 値は共に深度に伴って値が上昇した。このことは、深部ほど熱熟成が進行していることに起因すると考えることができるだろう。D.I. 値の上昇は、II-1 で既に述べたが、ポルフィリン骨格のエチルメチルピロール部位のアリル位に相当する炭素-炭素結合が他の結合に比べて結合開裂エネルギーが低いため切れやすく、熱熟成の進行と共に脱メチル化が起こったことを示している。ポルフィリン側鎖の熱変質による脱メチル化反応は、先行研究で報告されているモデルポルフィリンの加熱実験においても実証されており (Nomoto *et al.*, 2001b), エチルメチルピロール骨格のみを有するモデルポルフィリンとして ETIO-III を用いた加熱実験の結果、ジメチルピロール骨格を生じることが確認されている。一方、加熱を行わない ETIO-III のクロム酸化生成物からは、EMMi のみが検出されているため、ジメチル側鎖は、エチルメチル側鎖のエチル基の脱メチル化反応によって生じているのは明らかである。また、ビトリナイト反射率 ( $R_o$ ) と D.I. 値が深度に伴って値が上昇する傾向は、先行研究で報告されている新庄地域堆積岩の分析結果 (Shimoyama *et al.*, 2001) とよく一致する。

D.I. 値とビトリナイト反射率 ( $R_o$ ) の相関関係を検討するため、本研究で得られた堆積岩分析結果と新庄地域堆積岩分析結果を併せ、各堆積岩の D.I. 値をビトリナイト反射率 ( $R_o$ ) に対してプロットし、それぞれの相関係数 ( $R^2$ ,  $p$ ) を最小二乗法によって求めた (図 III-11)。その結果、各堆積岩データの相関係

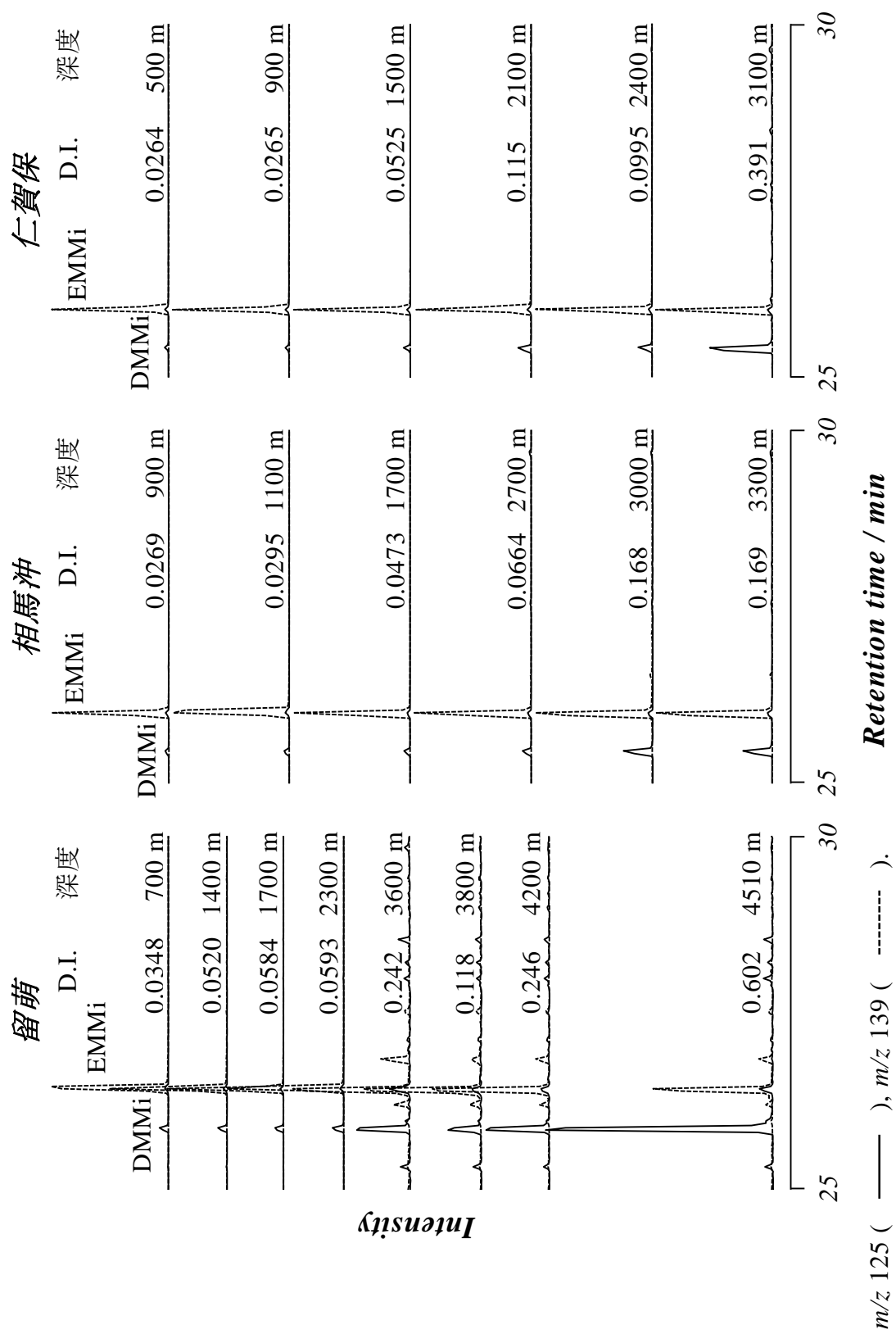


図 III-9. 留萌，相馬沖，仁賀保地域基礎試錐堆積岩のクロム酸化生成物のガスクロマトグラムと脱メチル化指標



表 III-1 留萌，相馬沖，仁賀保地域基礎試錐堆積岩クロム酸酸化生成物中の  
DMMi と EMMi の濃度

試料深度 (m)	採取地域	濃度 (pmol / g-rock)		D.I. 値
		DMMi	EMMi	
700	留萌	779	21600	0.0348
1400	留萌	1300	23700	0.0520
1700	留萌	844	13600	0.0584
2300	留萌	1400	22200	0.0593
3600	留萌	151	474	0.242
3800	留萌	173	1290	0.118
4200	留萌	591	1810	0.246
4510	留萌	1450	960	0.602
900	相馬沖	859	31100	0.0269
1100	相馬沖	2350	77400	0.0295
1700	相馬沖	382	7700	0.0473
2700	相馬沖	561	7890	0.0664
3000	相馬沖	165	819	0.168
3300	相馬沖	486	2390	0.169
500	仁賀保	1680	6200	0.0264
900	仁賀保	682	25100	0.0265
1500	仁賀保	804	14500	0.0525
2100	仁賀保	10100	77900	0.115
2400	仁賀保	1010	9140	0.0995
3100	仁賀保	4850	7540	0.391

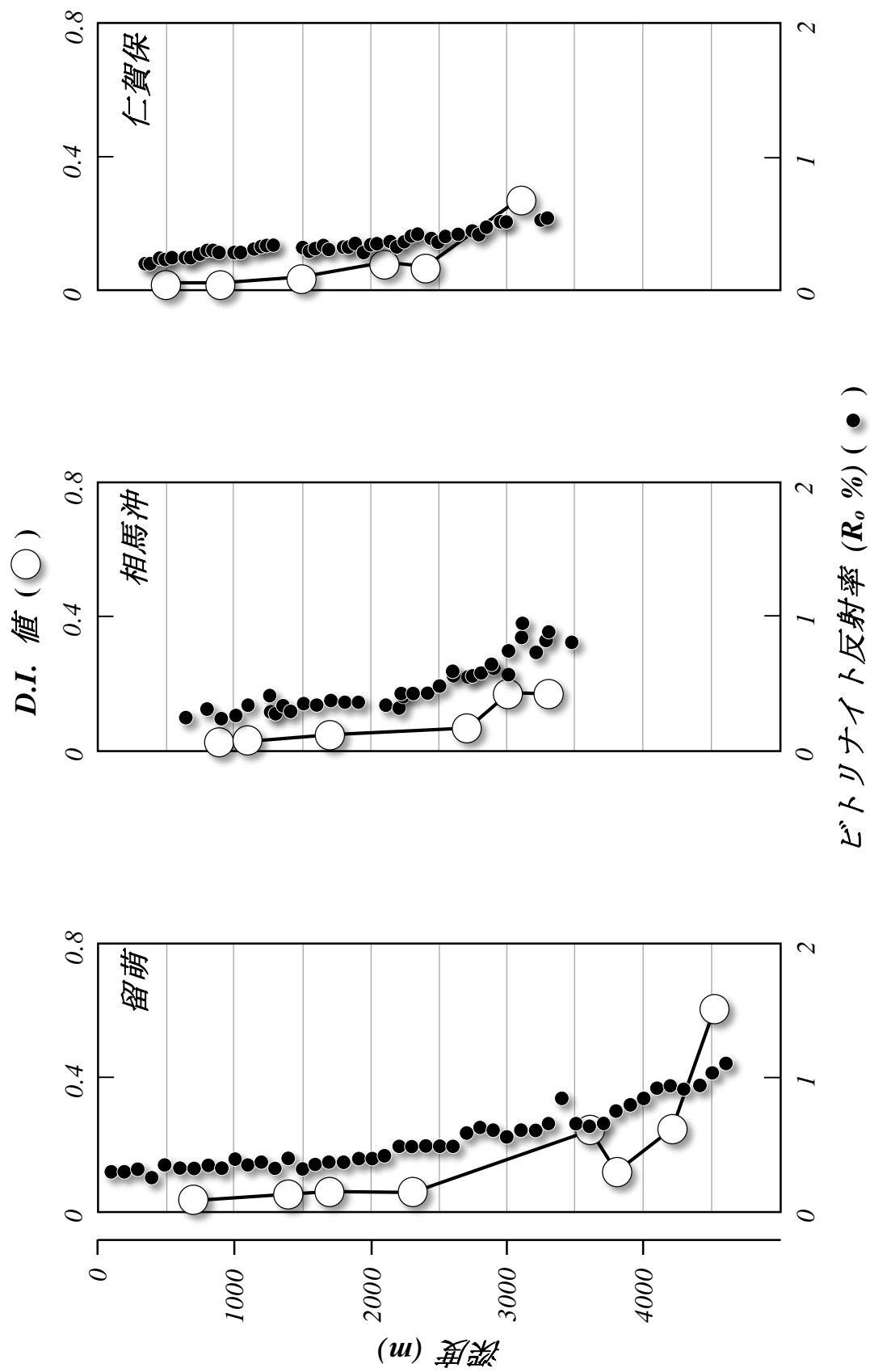


図 III-10. 留萌, 相馬沖, 仁賀保地域基礎試堆堆積岩の

D.I. 値 (○) と ビトリナイト反射率 ( $R_o$ ) (●) の深度分布

数 ( $R^2, p$ ) は、留萌地域基礎試錐が 0.86,  $8.4 \times 10^{-4}$ , 相馬沖地域基礎試錐が 0.94,  $1.3 \times 10^{-3}$ , 仁賀保地域基礎試錐が 0.47, 0.13, (3100 m の試料を除いた場合は 0.97,  $2.1 \times 10^{-3}$ ) そして、全体の相関係数 ( $R^2, p$ ) (仁賀保地域基礎試錐 3100 m を除く) は 0.79,  $2.1 \times 10^{-13}$  を示し、ビトリナイト反射率 ( $R_o$ ) が約 0.2 ~ 1.0 % の間で明瞭な相関関係が確認された。仁賀保地域の基礎試錐において 3100 m の試料を含めると相関が小さくなる理由として、この試料は ビトリナイト反射率 ( $R_o$ ) が 0.23 ~ 0.37 % と熟成の幅が小さいことが寄与している可能性もある。また、脱メチル化の進行の程度に地域差が見られる。ポルフィリン側鎖の芳香族化は、側鎖アルキル基の合計炭素数がベンゼン環を形成する条件を満たすクロロフィルの寄与が多いほど良く進行する (Yota and Nomoto, 2014a)。このことについては、第 IV 章で詳しく述べたい。一方、脱メチル化の進行は、クロロフィル類が大抵保有しているエチルメチル側鎖で起こる反応のため、起源のクロロフィルの組成の影響を受けるとは考えにくい。脱メチル化の程度の地域差は、ポルフィリンが保存された堆積物中の粘土鉱物などの組成の違いに起因する可能性がある。実際に、脱メチル化反応は粘土鉱物の存在により、加速されることが知られている (Nomoto *et al.*, 2001b)。今後、異なる粘土鉱物を添加した加熱実験が必要である。しかし、複数の異なる地域の分析結果であることを踏まえても、全体的に相関係数 ( $R^2, p$ ) は高い値を示しているため、D.I. 値の熱熟成度指標としての有効性が確認された。この方法は、堆積岩試料を洗浄後、クロム酸酸化して、とくに精製することなく D.I. 値を求めることができるため、ビトリナイト反射率 ( $R_o$ ) の測定に比べて簡便に熱熟成度を求める手法になる。また、III-1 で説明した熱熟成度指標であるメチルフェナントレンの 1- / 2- 異性体比 (Hagiwara *et al.*, 2000) や CPI 値 (Taguchi *et al.*, 1986) と比較すると、D.I. 値は、CPI 値より高熱成帯に適用できるが、メチルフェナントレンの 1- / 2- 異性体比ほど高熱成帯には適用できない指標であることが解った。しかし、メチルフェナントレンの 1- / 2- 異性体比などは遊離態分子を対象にした熱熟成度指標である一方で、本研究における D.I. 値は、一旦対象試料を洗浄してから得られる結合態分子を対象にしているため、本研究における D.I. 値の方が地層固有性の高い値を示すことが出来る。また、本研究でのデータ追加により、D.I. 値が約 0.2 以上を示す堆積岩試料は、いずれの地域でも石油生成帯に相当するビトリナイト反射率 ( $R_o$ ) の値に達することも明らかとなった。

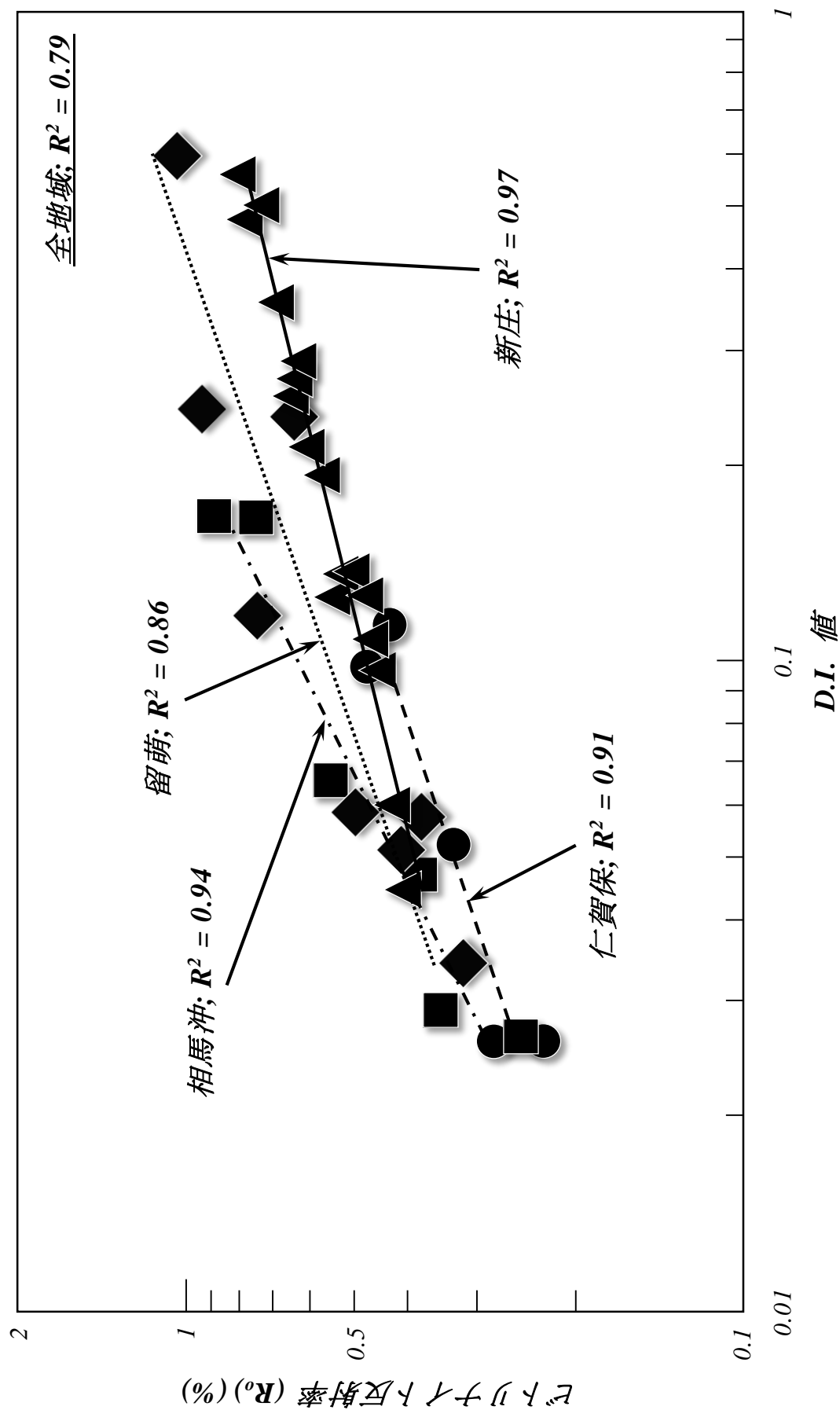


図 III-11. ビトリナイト反射率 ( $R_o$ ) と D.I. 値の関係 (仁賀保地域基礎試錐 3100 m を除く)

▲: 新庄地域堆積岩, ●: 留萌地域基礎試錐, ■: 相馬沖地域基礎試錐, ◆: 仁賀保地域基礎試錐

### III-3-3. 脱メチル化指標の加熱実験への利用

固相で行う加熱実験では反応の進行を制御することが困難（反応が暴走あるいは開始遅れを起こす（例えば, Ando *et al.*, 2002））であるため、生成物の経時変化を追跡するとプロットが大きく変動する現象が見られることがある（例えば, Asahina *et al.*, 2011）。例として, Nomoto *et al.* (2008) による ETIO-III の加熱実験で生じた 3,4-ジメチルフタルイミド (3,4-DMPi) のモル分率を加熱時間に対して (図 III-12a), および D.I. 値に対して (図 III-12b) プロットしたグラフを示す。生成物量を時間に対してプロットすると分散の大きいグラフが得られる。一方, D.I. 値を横軸に用いると, 異なる反応時間や温度であっても分散の少ない滑らかなグラフを得ることが出来る。すなわち, D.I. 値はポルフィリン側鎖の熱化学変化の進行を良い精度で反映する指標である。なお, D.I. 値を横軸に用いる場合の考察限界は, 0.5~0.6 としている。それ以上を示す熟成度になるとプロットが分散する現象がこれまでに確認されている (unpublished data) ことから, 熱熟成の程度を正しく示すことが困難である。そのため, 加熱実験において, D.I. 値が約 0.6 以上を示すプロットについては, 現時点では考察の対象外としている。このことは, 過剰な熱熟成により, ピロール骨格自体の分解がはじまることに起因していると考えられる。

脱メチル化反応はラジカル機構で進行すると考えられる (式 III-3) ので, 生成したラジカル活性種を中性分子にする性質 (クエンチ) を持つ物質の存在下では, 反応が減速される。一方, ラジカルを容易に発生する物質は, この反応を加速すると考えられる。堆積物中では, 前者の性質を持つ物質として硫黄などが考えられる。アルキル基を持つ芳香族化合物は, 一般的に芳香環に直接結合した炭素はラジカル化が容易であるためにラジカルを容易に発生する。地層ポルフィリン類がこれらの物質と共存する場合には, 脱メチル化の加速や減速が起こると考えられる。

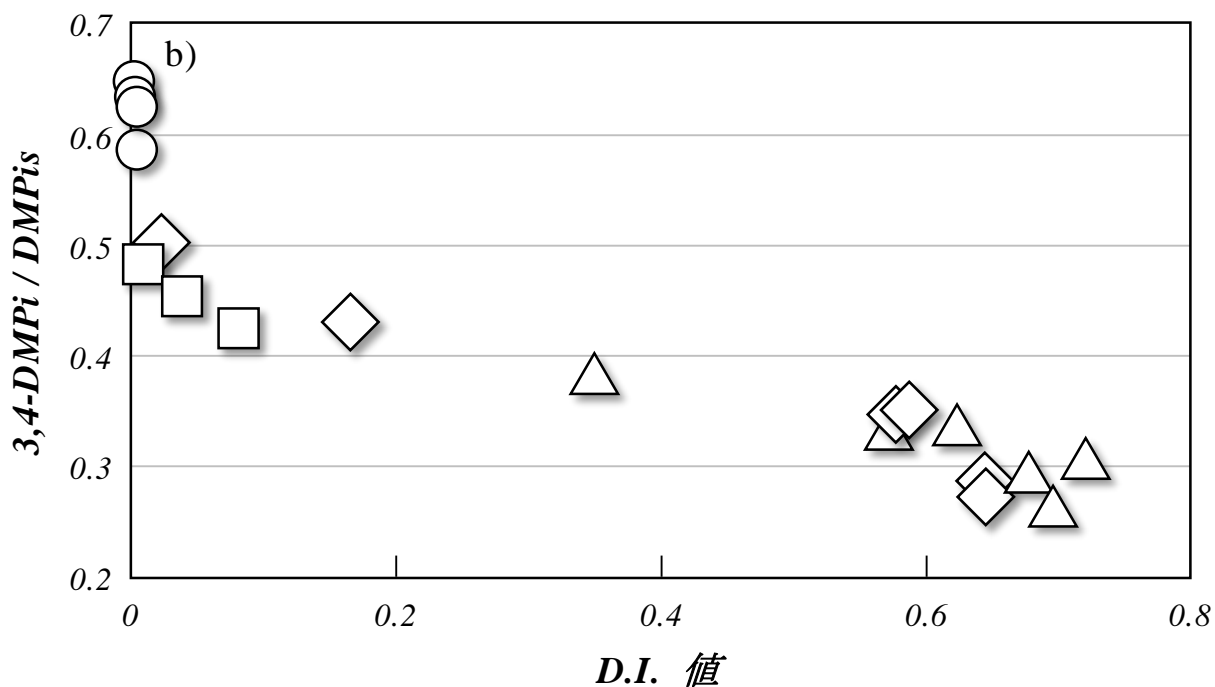
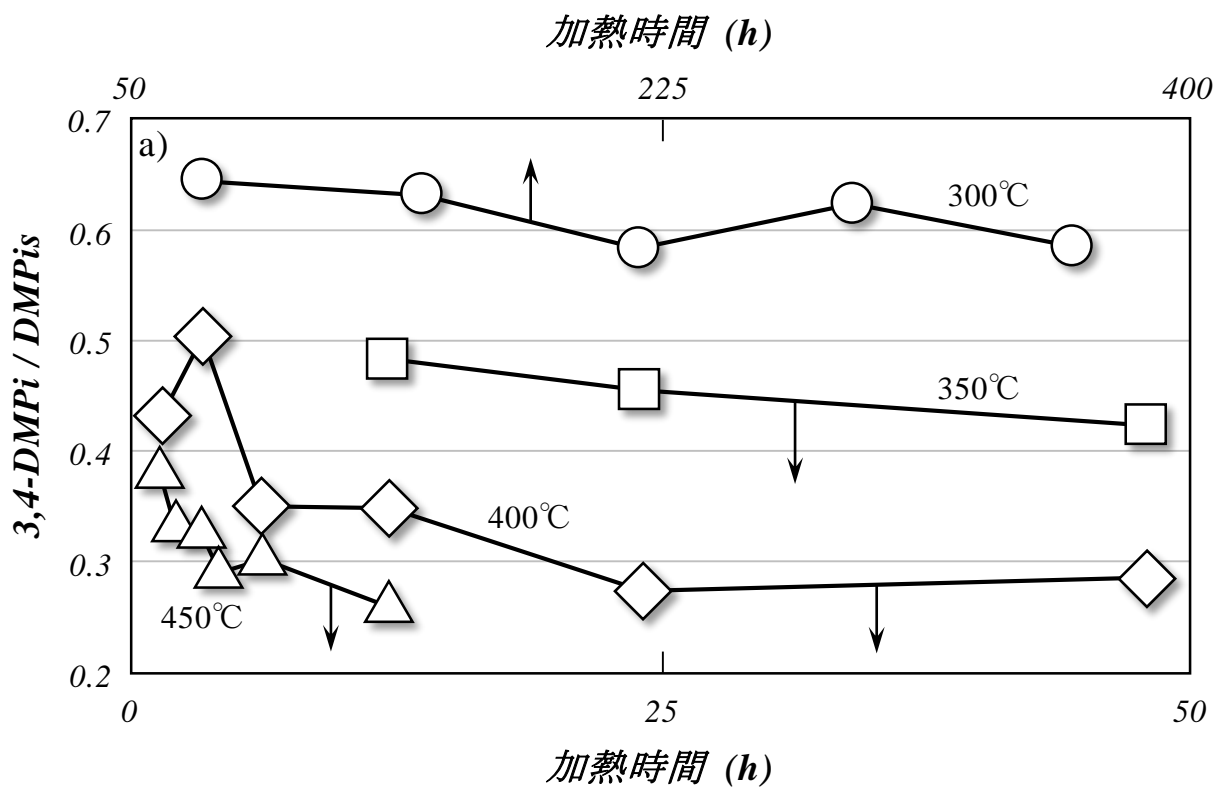
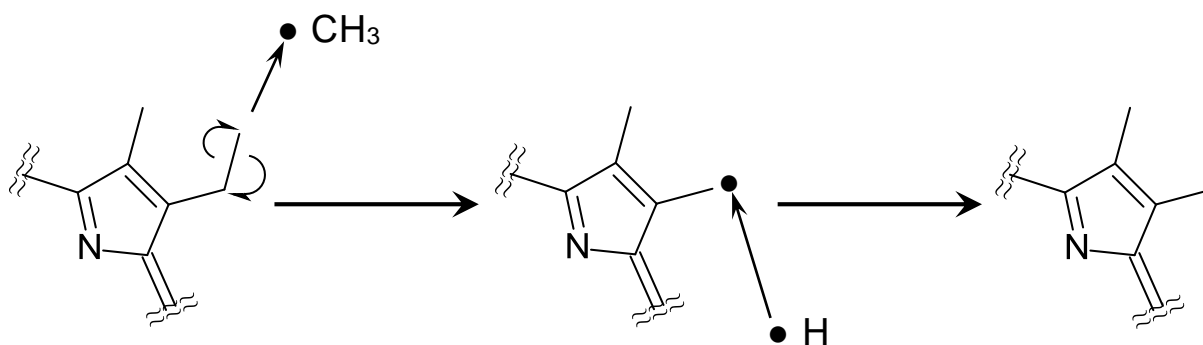


図 III-12. ETIO-III の加熱によって生じた 3,4-DMPi とジメチルフタリイミド類 (DMPis) のモル比の加熱時間 (a) または D.I. 値 (b) に対するプロット図



式 III-3. ラジカル機構による脱メチル化反応

#### III-4. 第 III 章のまとめ

第 III 章では、留萌地域基礎試錐，相馬沖地域基礎試錐そして，仁賀保地域基礎試錐の 3 地域の堆積岩試料中のポルフィリンの D.I. 値（脱メチル化指標）の測定と深度分布の解析を行った。その結果，各堆積岩データのビトリナイト反射率 ( $R_o$ ) と D.I. 値の相関係数 ( $R^2, p$ ) は，留萌地域基礎試錐が 0.86,  $8.4 \times 10^{-4}$ ，相馬沖地域基礎試錐が 0.94,  $1.3 \times 10^{-3}$ ，仁賀保地域基礎試錐が 0.97, 0.12，新庄地域堆積岩が 0.97,  $1.1 \times 10^{-13}$ ，そして，全体の相関係数 ( $R^2, p$ ) は 0.79,  $2.1 \times 10^{-13}$  であり，全体的に高い値を示すことから，D.I. 値の熱熟成度指標としての有効性が確認された。この方法は，ビトリナイト反射率 ( $R_o$ ) の測定に比べて容易に D.I. 値を求めることができるため，簡便に熱熟成度を求める手法になる。また，ケロジェンに化学結合あるいは強く保持されているポルフィリン，またはその断片に由来する DMMi と EMMi を定量しているため，この手法で求める熱熟成度指標は他の年代からの汚染の影響の少ない地層固有性の高い値である。D.I. 値が 0.2 以上を示す試料はいずれの地域においても石油生成帯に相当するビトリナイト反射率 ( $R_o$ ) の値に相当することが示唆された。D.I. 値は堆積物中の有機物の熱熟成度指標以外にも，加熱実験などの考察に用いることで基質側鎖の熱化学変化の精密な追跡を行うためのパラメータとしても有効である。

## 第 IV 章

結合態フタルイミド／マレイミド比を用いる  
堆積物中の有機物の新しい熱熟成度指標



## 第 IV 章

### 結合態フタルイミド／マレイミド比を用いる 堆積物中の有機物の新しい熱熟成度指標

#### IV-1. 序論

堆積物中の有機物の熱熟成度を知ることの意義や様々な熱熟成度指標の例、そして、簡便に求めることの出来る熱熟成度指標が現在求められていることについては、第 III 章の序論ですでに述べた。

熱熟成の進んだ堆積物中においては、アルキルポルフィリンのアルキル側鎖が芳香族化することが、当研究室における先行研究で報告されているオクタエチルポルフィリン、ETIO-III、そして、オクタメチルポルフィンの加熱実験により実証されている (図 IV-1; Nomoto *et al.*, 2008)。この芳香族化は、アルキルポルフィリンのアルキル側鎖が熱熟成に伴って芳香環を形成可能な炭素数以上に伸長後、6 員環を形成し、続いて芳香族化することに起因すると考えられる (Asahina *et al.*, 2010)。すなわち、地層ポルフィリン側鎖の芳香族化の進行の程度を見るための結合態フタルイミド / マレイミド比 (総結合態フタルイミド類 / (総結合態フタルイミド類 + 総結合態マレイミド類)) を利用した芳香族化指標 (図 III-2) は、新しい熱熟成度指標になり得る可能性を持つ。そこで、第 IV 章では、この可能性を実証することを目的として、堆積岩のクロム酸酸化生成物中の芳香族化指標の深度分布を測定し、熱熟成度指標の評価として、ビトリナイト反射率 ( $R_o$ ) の深度分布と比較した。

#### IV-2. 実験手法

##### IV-2-1. 試料

本研究では、第 III 章と同じ下記に示す 3 地域の基礎試錐で得られた堆積岩試料を分析した。1) 北海道留萌地域の昭和 61 年基礎試錐の 8 試料 (700 ~ 4510 m; 白亜紀 ~ 新第三紀), 2) 福島県相馬沖地域の平成 2 年基礎試錐の 6 試料 (900 ~ 3300 m; 白亜紀 ~ 新第三紀), 3) 秋田県仁賀保地域の昭和 63 年基礎試錐の 6 試料 (500 ~ 3100 m; 新第三紀中新世 ~ 第四紀更新世)。詳細については III-2-1 を参照されたい。これらは、独立行政法人石油天然ガス・金属鉱物資源機構より供与されたカッテングス試料である。

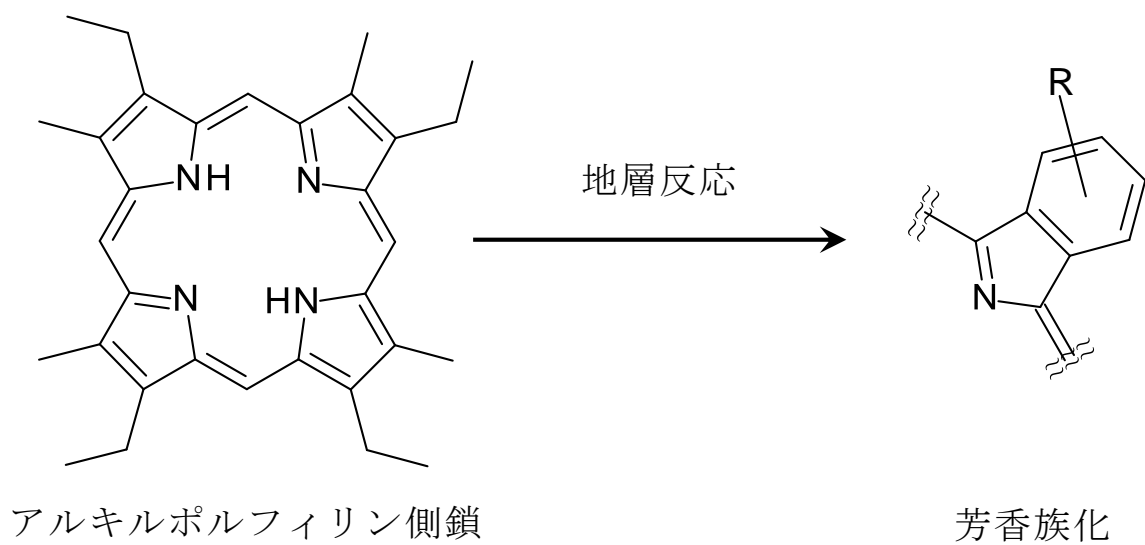


図 IV-1. アルキルポルフィリン側鎖の熱熟成による芳香族化

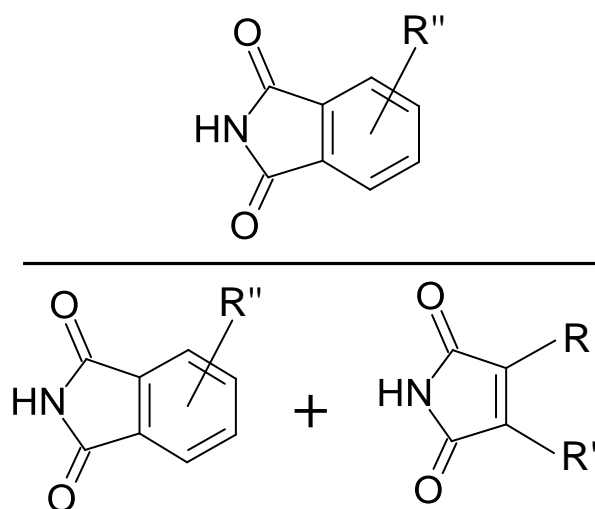
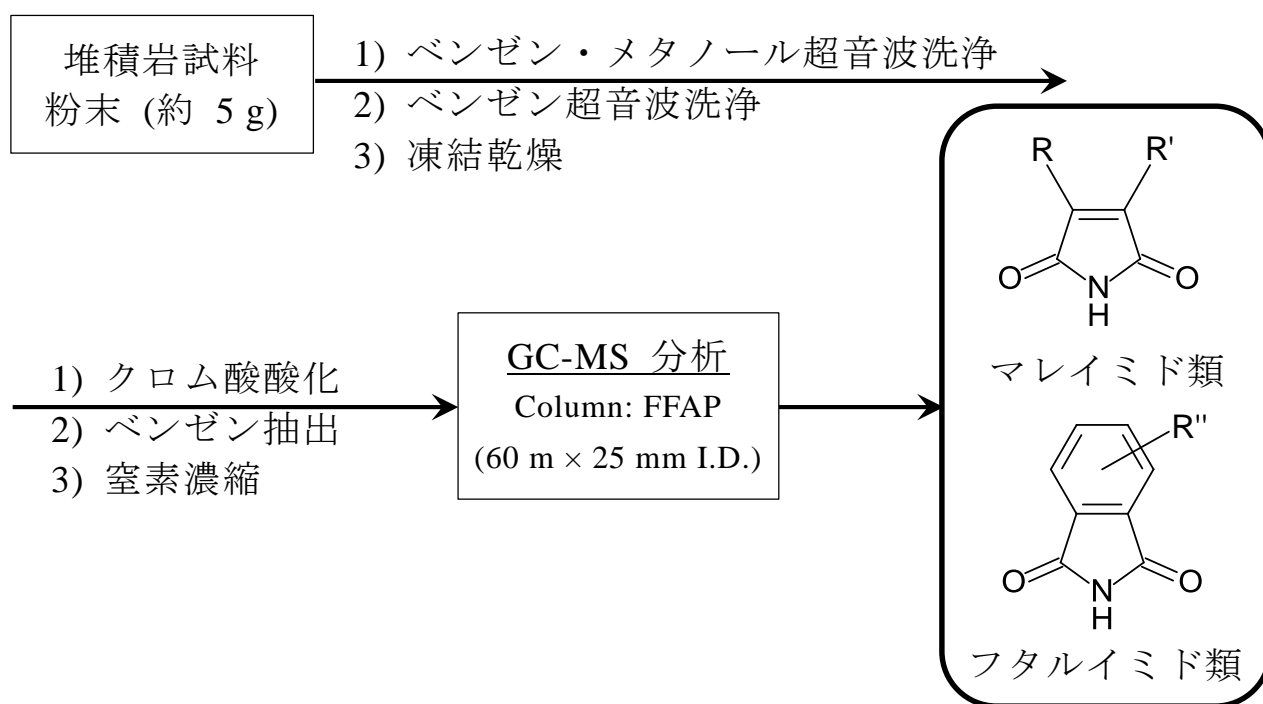


図 IV-2. 結合態フタルイミド / マレイミド比を利用した芳香族化指標

#### IV-2-2. 堆積岩の分析

堆積岩の分析は、II-2-2 と同様に行った。すなわち、堆積岩試料の粉末約 5 g をベンゼン：メタノール (4：1 v/v) を用いて超音波洗浄を 5 回行った後、凍結乾燥した試料に 25 vol% 硫酸水溶液：10 wt% クロム酸水溶液 (1：1 v/v) 10 mL を加えて 0℃ ～ 室温で 4 時間酸化反応を行った。反応溶液をベンゼンで 5 回抽出して、抽出液を乾燥後、精製することなく、濃縮して GC-MS 分析を行った (式 IV-1)。分析に用いた機器やカラム、オーブンの昇温条件なども II-2-2 と同様である。マレイミド類とフタルイミド類の同定、定量は I-4 (図 I-6) に示した 16 種類のマレイミド類 (MMMi, DMMi, EMMi, DEMi, MnPrMi, MiPrMi, MnBMi, MiBMi, MsecBMi, EnPrMi, EiPrMi, MnPenMi, MneoPenMi, MnHexMi, THPi, MMceMi) と 9 種類のフタルイミド類 (Pi, 3-MPi, 4-MPi, 3-EPi, 4-EPi, 3,4-DMPi, 3,5-DMPi, 3,6-DMPi, 4,5-DMPi) を標品として使用して、それらの、マススペクトルとリテンションタイムとの比較により行った。



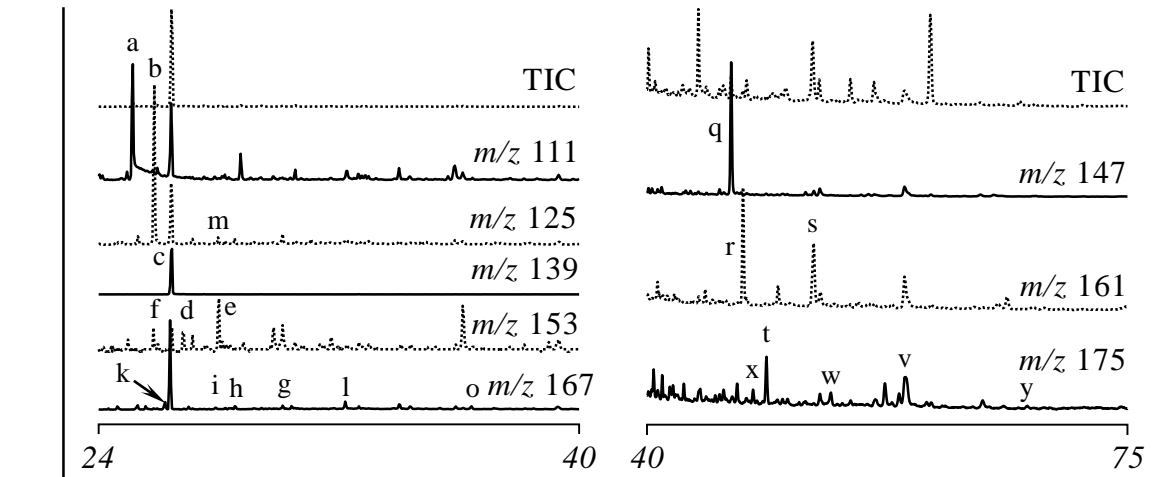
式 IV-1. 結合態マレイミド類およびフタルイミド類の分析の作業手順

### IV-3. 結果と考察

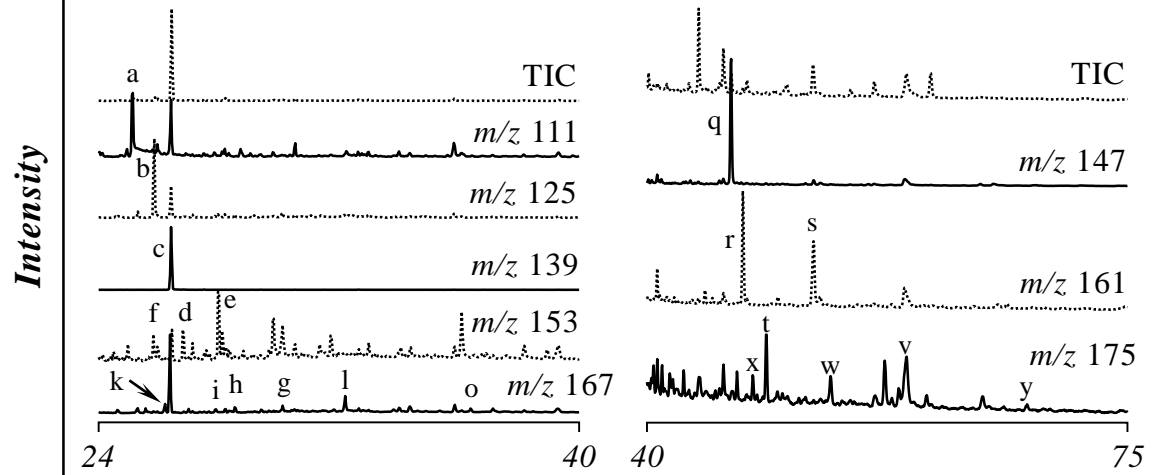
#### IV-3-1. 存在量の深度分布

堆積岩をクロム酸酸化して得られた成分のクロマトグラムを図 IV-3~9 (検出された化合物の英小文字標記については 図 I-8 を参照) に、定量まで行ったマレイミド類とフタルイミド類の実測値を表 IV-1~6 に示す。尚、表 IV-1~6 は、堆積岩試料 1 g 当たりの含有量 (pmol / g-rock) である。図 IV-3~9 中の、例えば、相馬沖地域基礎試錐 3300 m や仁賀保地域基礎試錐 2400 m などの保持時間 40 分以降の TIC のベースラインが乱れていることについて、この保持時間にはフェノール類がよく検出されることが原因であるが、それらはここで示しているフラグメントグラムには影響しない化合物である。堆積岩を酸化抽出した試料からは 3 種類の C<sub>5</sub>-C<sub>7</sub> マレイミドとして、MMMi, DMMi, そして, EMMi, 3 種類の C<sub>8</sub> マレイミドとして, DEMi, MnPrMi, そして, MiPrMi, 5 種類の C<sub>9</sub> マレイミドとして, MnBMMi, MiBMMi, MsecBMMi, そして, EiPrMi, その他の 3 種類のマレイミドとして, MnPenMi, MneoPenMi, そして, THPi が検出された。また, 9 種類のフタルイミドとして, Pi, 3-MPi, 4-MPi, 3-EPi, 4-EPi, 3,4-DMPi, 3,5-DMPi, 3,6-DMPi, そして, 4,5-DMPi が検出された。その他にも微量成分として, EnPrMi と MnHexMi が検出された。なお, 表 IV-1~6 に示していないマレイミド類については, 同定はしたが, 定量までは行っていない。また, 全ての採取地点において, 深度の増加と主に結合態マレイミド類が減少し, 一方で結合態フタルイミド類は, 深度が増加すると共に濃度も増加する傾向が見られた (図 IV-10)。このことは, クロム酸酸化で得られるフタルイミド類の前駆体であるベンゾピロール骨格が, 芳香族化合物の安定性のため, マレイミド類の前駆体であるアルキルピロール骨格に比べて安定であることが寄与していると考えられる。一方, Nomoto *et al.* (2008) が明らかにしているように, 堆積物中の高熱成帯では, アルキルピロール部位からもベンゾピロール構造が形成されるという説明もできる。どちらにしても, 堆積物中のアルキルポルフィリンの側鎖においては, 続成変化に伴って芳香環の生成が起こることが強く示唆された。

留萌地域基礎試錐 700 m



留萌地域基礎試錐 1400 m



留萌地域基礎試錐 1700 m

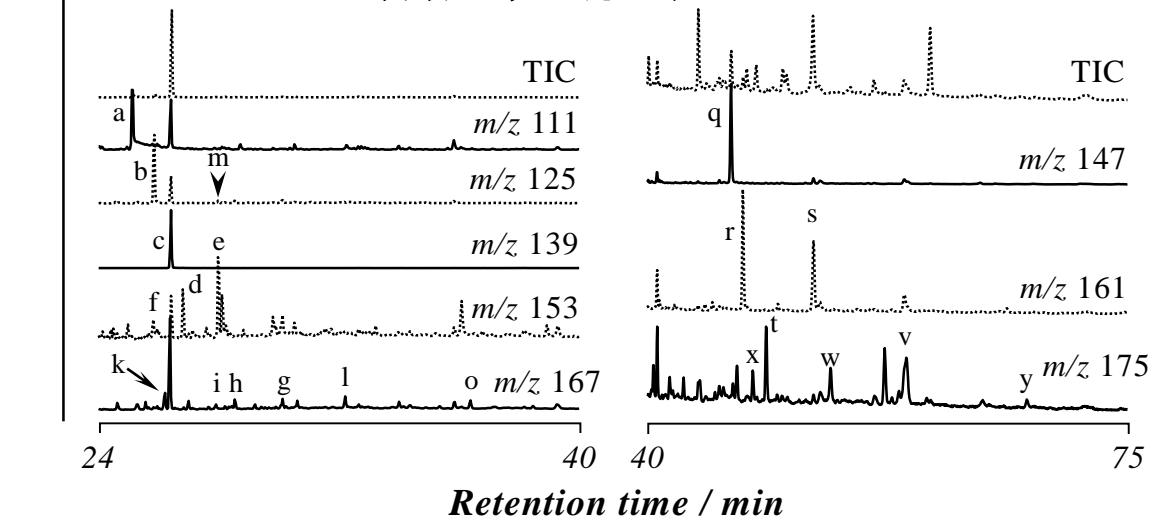
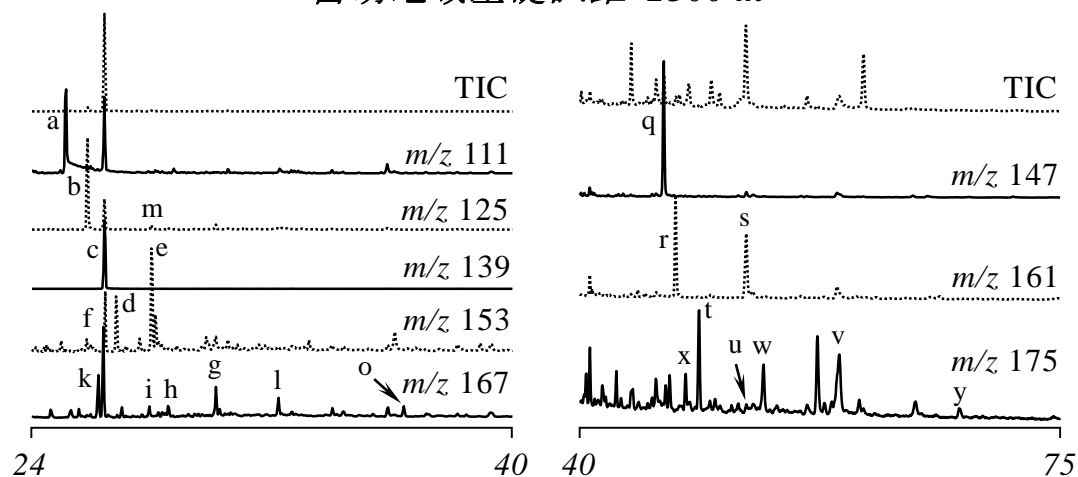
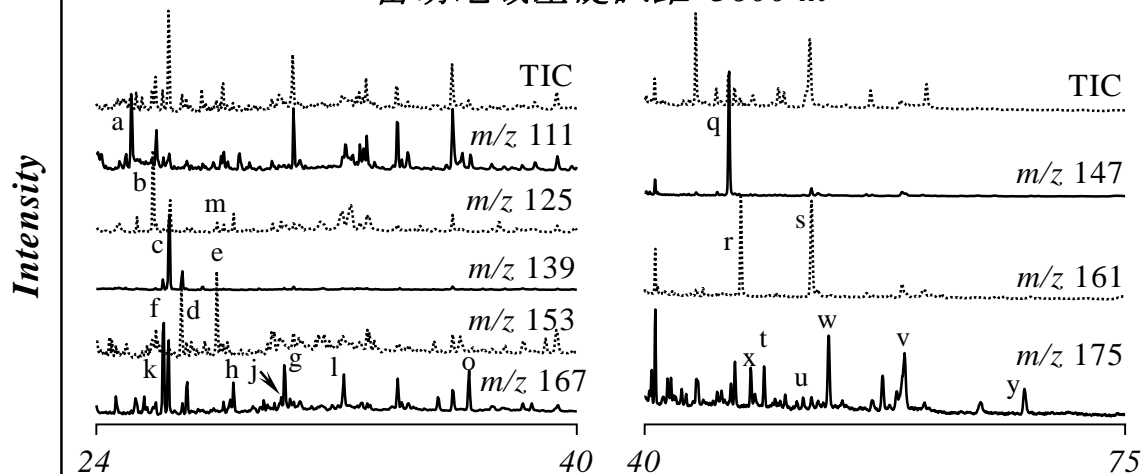


図 IV-3. 留萌地域基礎試錐 700 ~ 1700 m の結合態マレイミド類およびフタルイミド類のガスクロマトグラム  
(英小文字標記については 図 I-8 を参照)

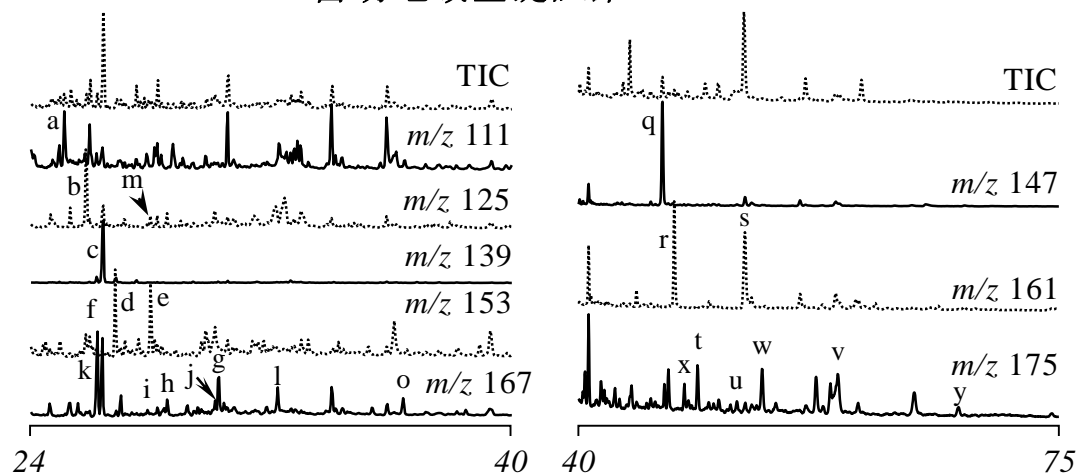
留萌地域基礎試錐 2300 m



留萌地域基礎試錐 3600 m



留萌地域基礎試錐 3800 m



Retention time / min

図 IV-4. 留萌地域基礎試錐 2300 ~ 3800 m の結合態マレイミド類およびフタルイミド類のガスクロマトグラム  
(英小文字標記については 図 I-8 を参照)

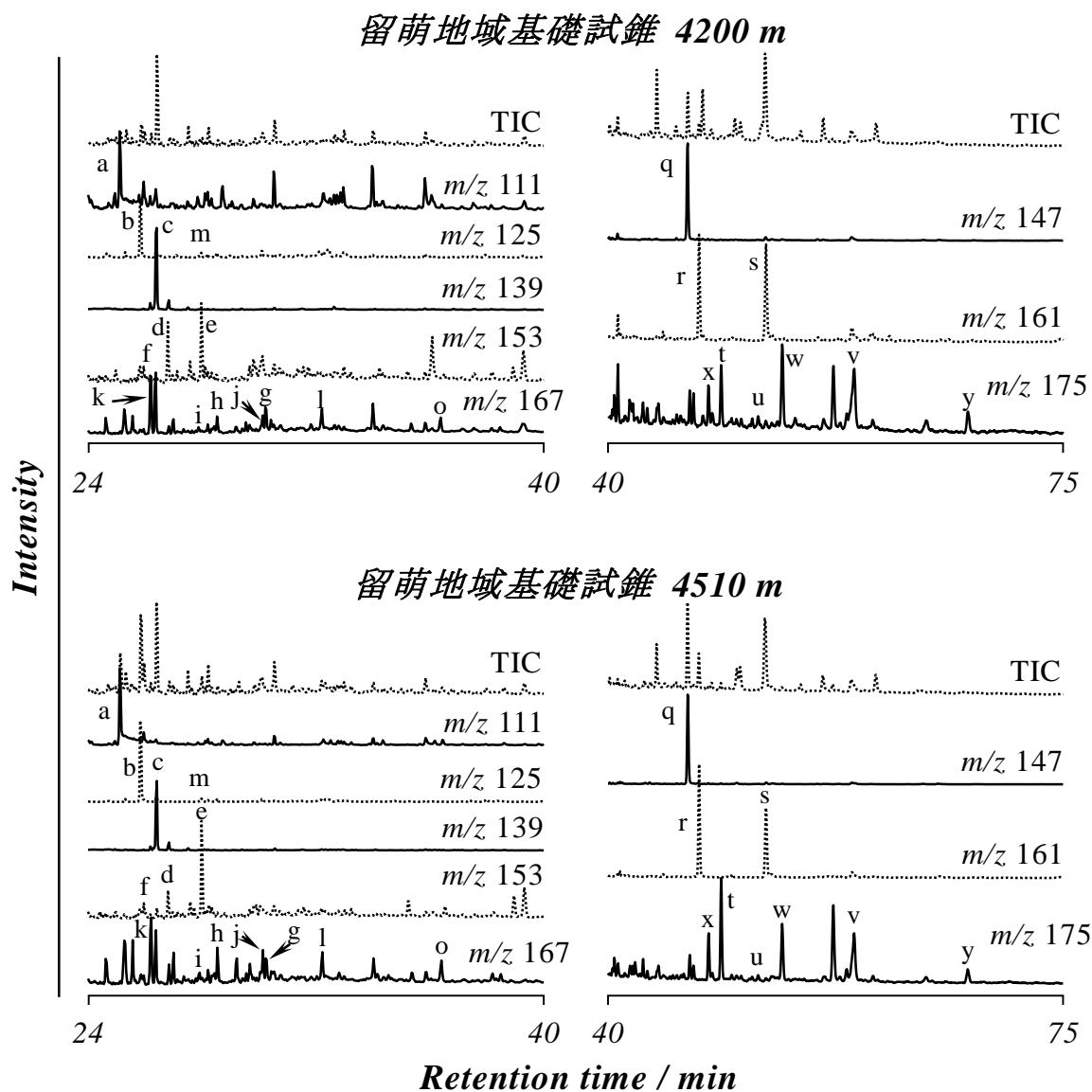
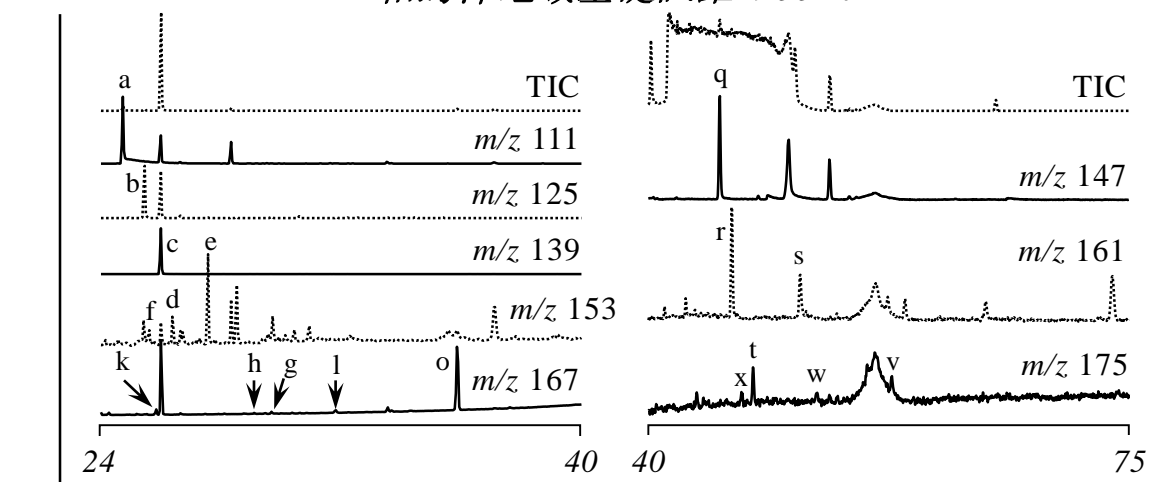
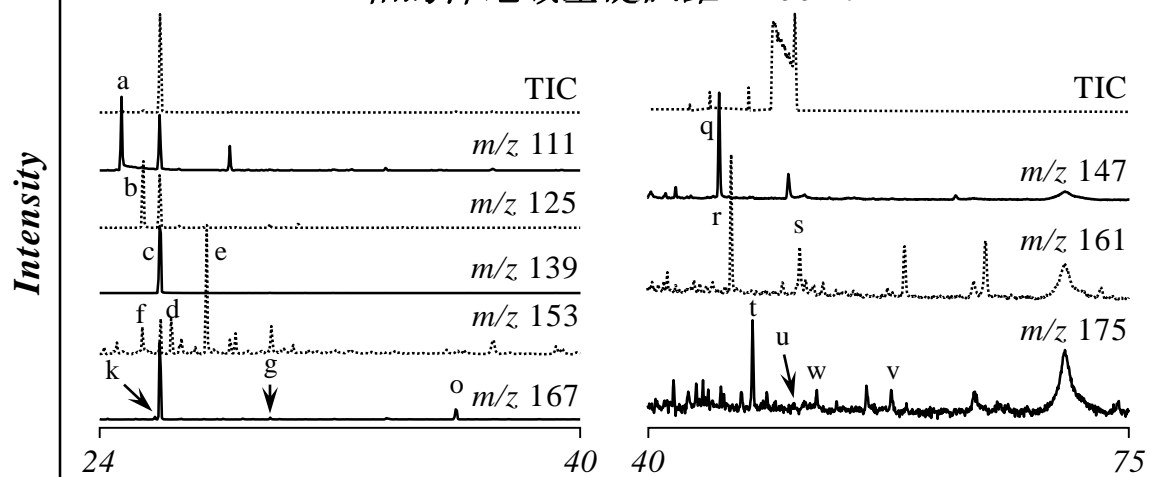


図 IV-5. 留萌地域基礎試錐 4200 ~ 4510 m の結合態マレイミド類および  
フタルイミド類のガスクロマトグラム  
(英小文字標記については 図 I-8 を参照)

相馬沖地域基礎試錐 900 m



相馬沖地域基礎試錐 1100 m



相馬沖地域基礎試錐 1700 m

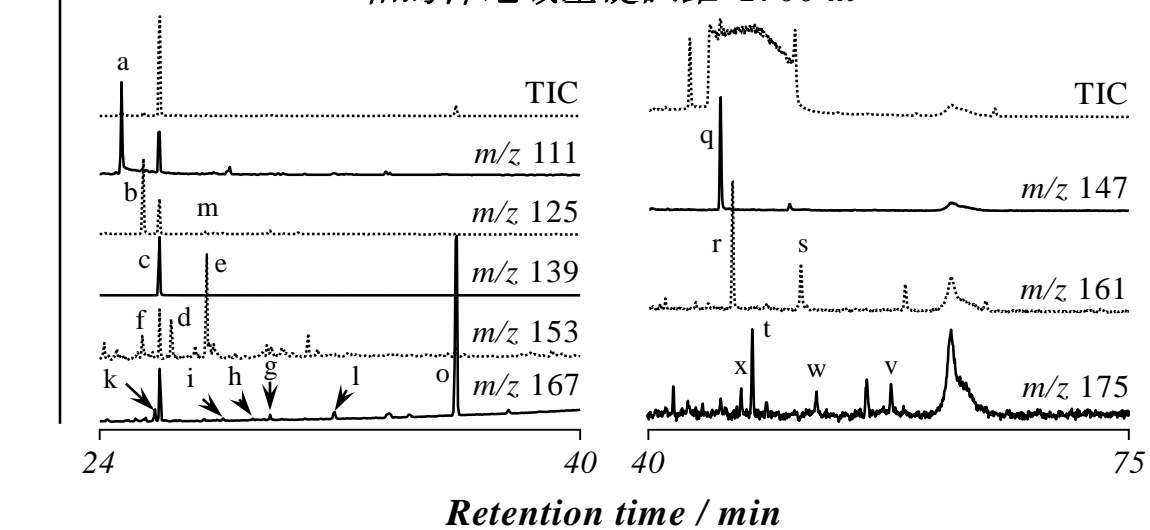
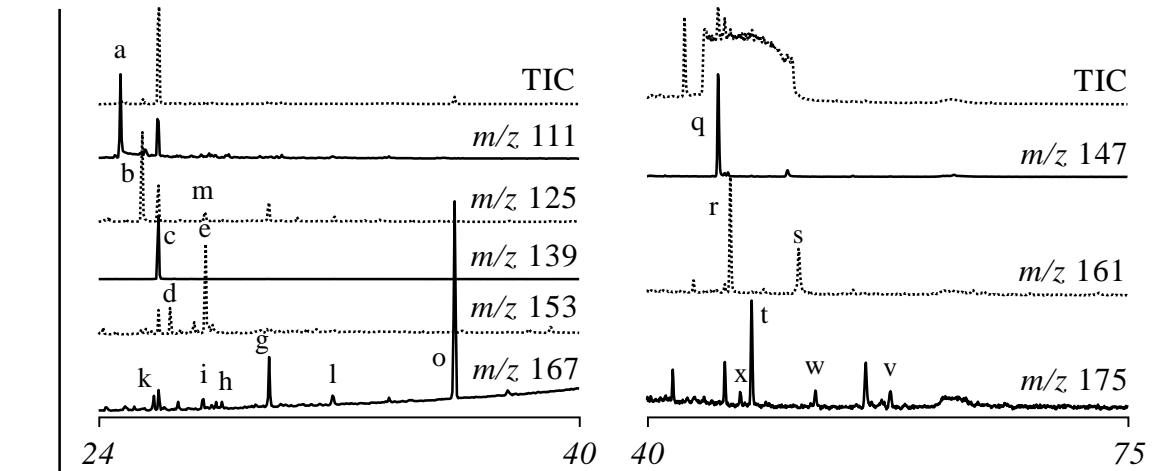


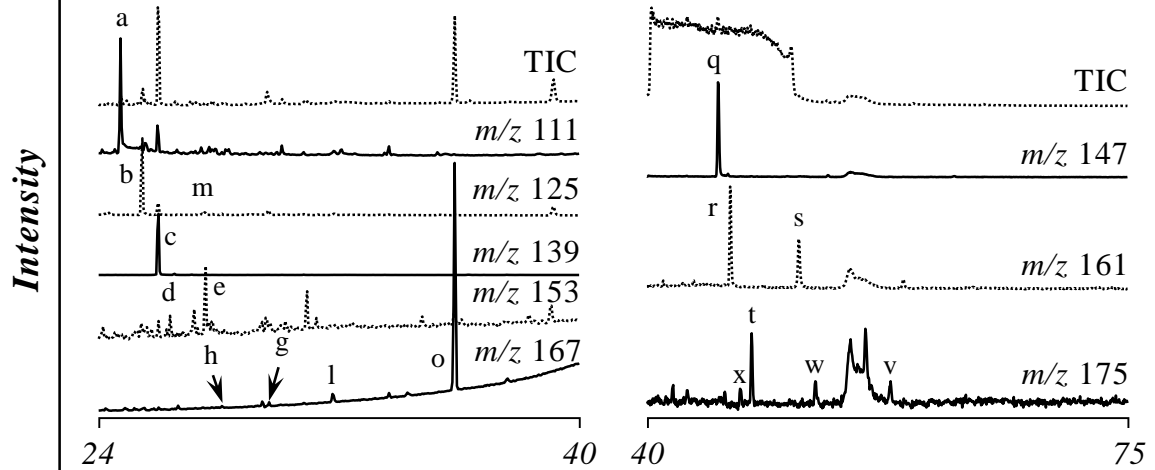
図 IV-6. 相馬沖地域基礎試錐 900 ~ 1700 m の結合態マレイミド類および  
フタルイミド類のガスクロマトグラム  
(英小文字標記については 図 I-8 を参照)



相馬沖地域基礎試錐 2700 m



相馬沖地域基礎試錐 3000 m



相馬沖地域基礎試錐 3300 m

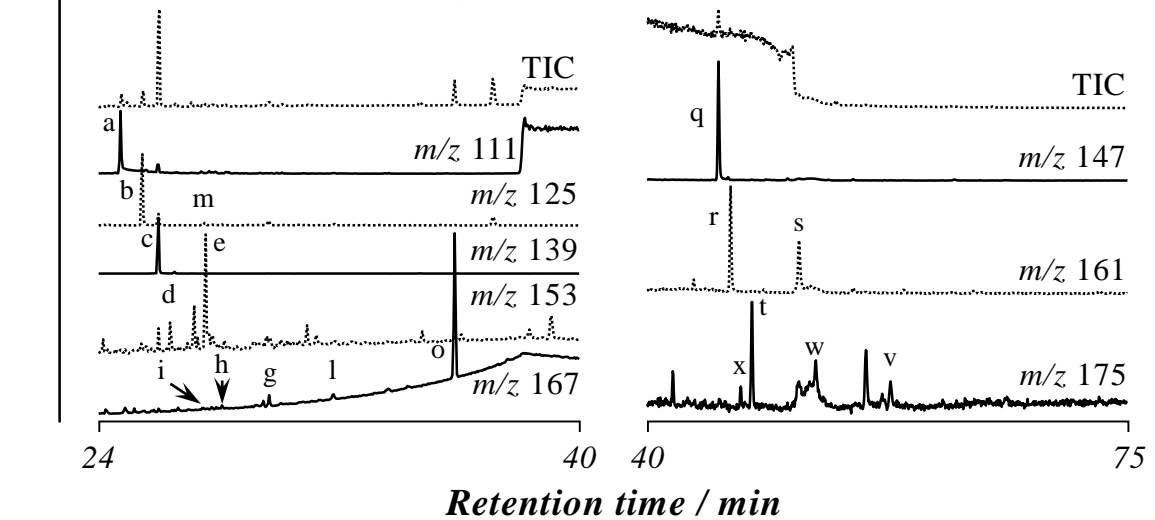
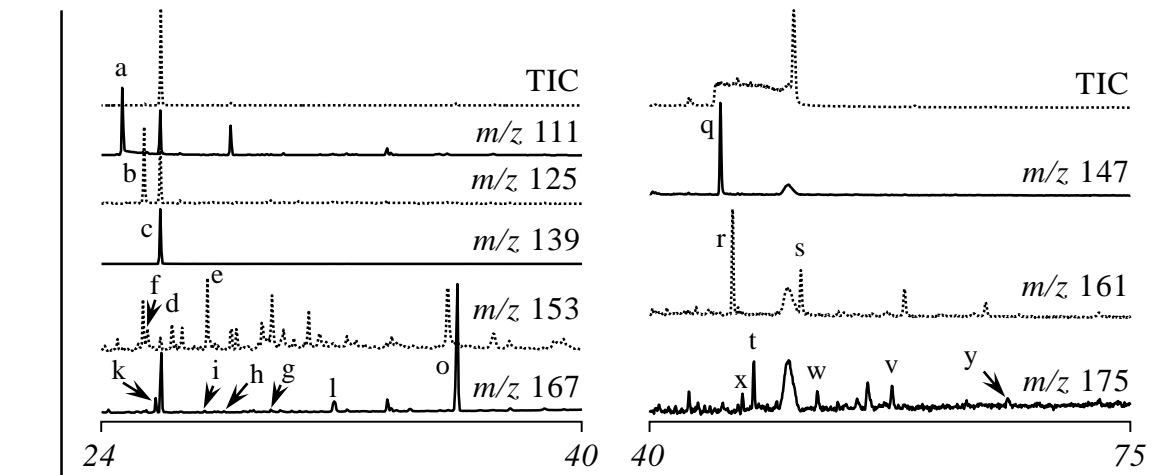
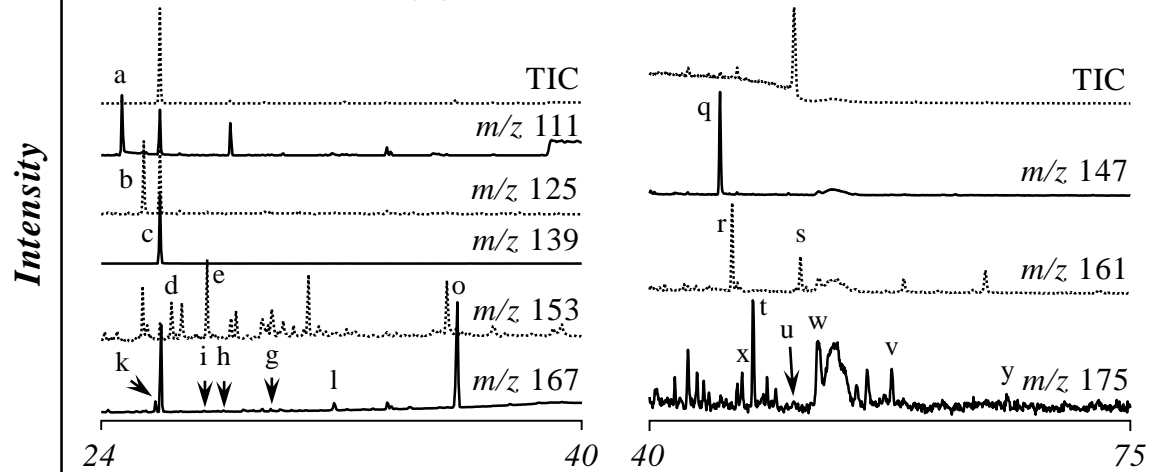


図 IV-7. 相馬沖地域基礎試錐 2700 ~ 3300 m の結合態マレイミド類およびフタルイミド類のガスクロマトグラム  
(英小文字標記については 図 I-8 を参照)

仁賀保地域基礎試錐 500 m



仁賀保地域基礎試錐 900 m



仁賀保地域基礎試錐 1500 m

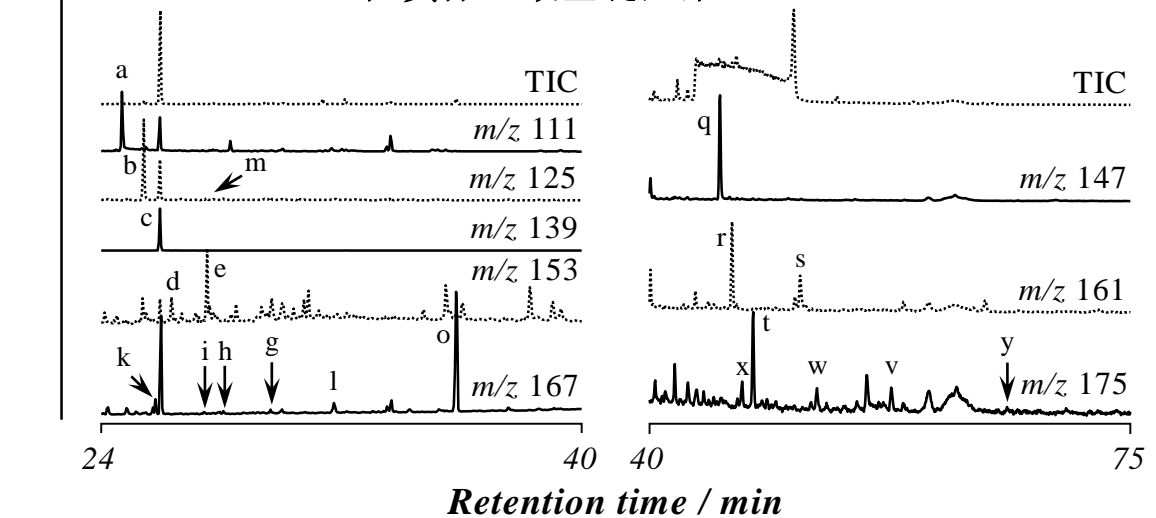
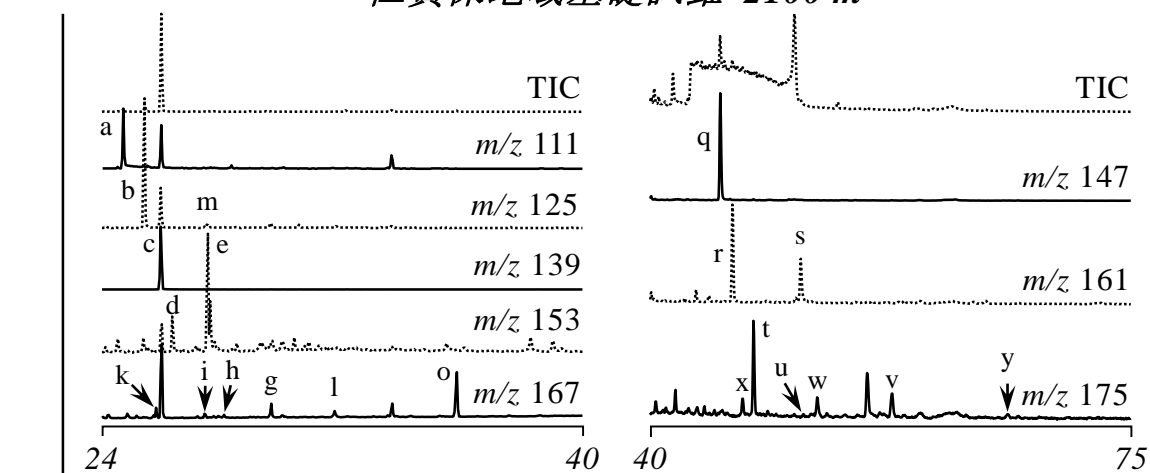
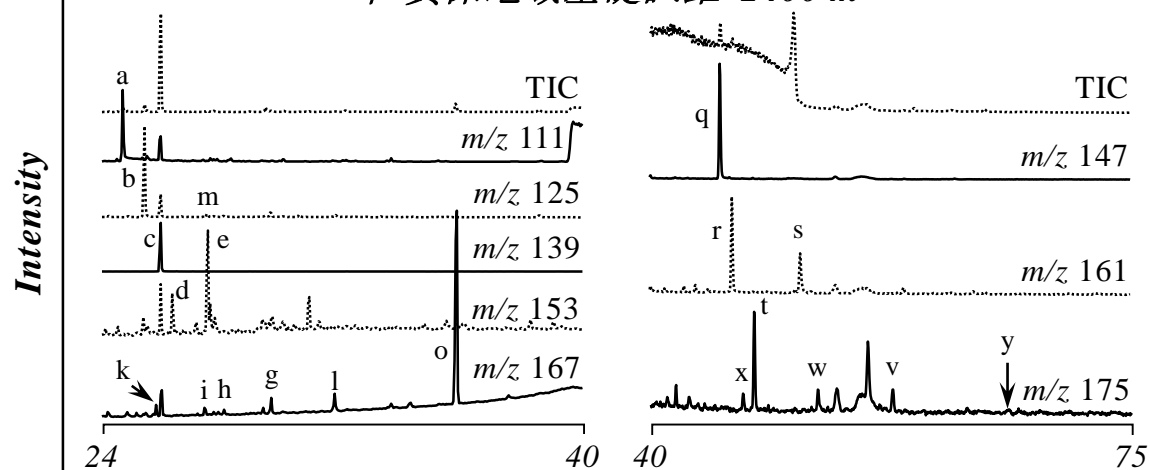


図 IV-8. 仁賀保地域基礎試錐 500 ~ 1500 m の結合態マレイミド類およびフタルイミド類のガスクロマトグラム  
(英小文字標記については 図 I-8 を参照)

仁賀保地域基礎試錐 2100 m



仁賀保地域基礎試錐 2400 m



仁賀保地域基礎試錐 3100 m

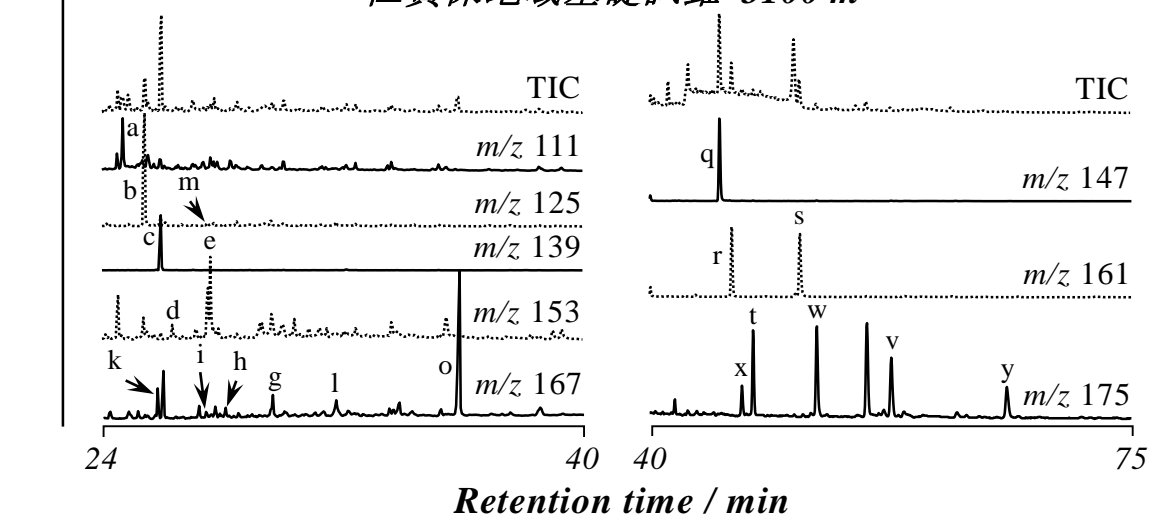


図 IV-9. 仁賀保地域基礎試錐 2100 ~ 3100 m の結合態マレイミド類およびフタルイミド類のガスクロマトグラム  
(英小文字標記については 図 I-8 を参照)

表 IV-1. 留萌地域基礎試錐堆積岩クロム酸酸化生成物中のマレイミド類の濃度と芳香族化指標

試料深度 (m)	採取地域	濃度 (pmol / g-rock)						芳香族化
		C <sub>5</sub> -C <sub>7</sub> マレイミド			C <sub>8</sub> マレイミド			指標
		MMMi	DMMi	EMMi	DEMi	M <i>n</i> PrMi	MiPrMi	
700	留萌	45780	779	21600	18.1	108	32.7	0.00665
1400	留萌	6880	1300	23700	38.9	150	63.1	0.0418
1700	留萌	3900	844	13600	20.0	83.0	36.0	0.0473
2300	留萌	5780	1400	222000	43.8	189	74.6	0.0328
3600	留萌	405	151	474	2.53	17.3	4.31	0.610
3800	留萌	379	173	1290	9.46	73.1	11.6	0.393
4200	留萌	1480	591	1810	12.3	117	10.4	0.440
4510	留萌	3280	1450	960	7.66	128	11.8	0.395

表 IV-2. 留萌地域基礎試錐堆積岩クロム酸酸化生成物中のフタルイミド類の濃度

試料深度 (m)	採取地域	濃度 (pmol / g-rock)								
		フタルイミド類								
		Pi	3-MPi	4-MPi	3-EPi	4-EPi	3,4-DMPi	3,5-DMPi	3,6-DMPi	4,5-DMPi
700	留萌	315	51.0	38.9	17.4	18.2	5.76	4.21	3.86	3.22
1400	留萌	1030	114	154	30.7	42.1	10.7	8.09	5.65	5.76
1700	留萌	620	104	109	25.8	35.8	9.47	5.21	4.91	3.43
2300	留萌	645	110	150	30.7	46.1	10.4	6.61	5.56	3.53
3600	留萌	1150	122	274	13.0	33.1	18.0	18.6	5.95	16.8
3800	留萌	776	138	211	35.5	56.9	13.9	12.0	7.05	5.39
4200	留萌	1910	327	627	49.1	126	39.6	41.9	15.2	23.9
4510	留萌	2530	531	742	95.5	168	34.7	30.3	23.4	16.1

表 IV-3. 相馬沖地域基礎試錐堆積岩クロム酸酸化生成物中のマレイミド類の濃度と芳香族化指標

試料深度 (m)	採取地域	濃度 (pmol / g-rock)						芳香族化 指標
		C <sub>5</sub> -C <sub>7</sub> マレイミド			C <sub>8</sub> マレイミド			
		MMMi	DMMi	EMMi	DEMi	M <i>n</i> PrMi	MiPrMi	
900	相馬沖	11500	859	31100	0.527	2.20	0.447	0.00389
1100	相馬沖	16900	2350	77400	2.15	10.9	2.33	0.00162
1700	相馬沖	2180	382	7700	0.537	2.09	0.711	0.0194
2700	相馬沖	2200	561	7890	1.31	7.71	1.33	0.0619
3000	相馬沖	511	165	819	0.175	0.869	0.192	0.157
3300	相馬沖	1740	486	2390	0.485	2.70	0.451	0.122

表 IV-4. 相馬沖地域基礎試錐堆積岩クロム酸酸化生成物中のフタルイミド類の濃度

試料深度 (m)	採取地域	濃度 (pmol / g-rock)								
		フタルイミド類								
		Pi	3-MPi	4-MPi	3-EPi	4-EPi	3,4-DMPi	3,5-DMPi	3,6-DMPi	4,5-DMPi
900	相馬沖	140	18.1	11.1	0.160	未検出	0.0994	未検出	0.290	未検出
1100	相馬沖	118	24.0	14.8	0.254	0.132	0.0926	未検出	0.0170	未検出
1700	相馬沖	149	29.7	23.7	0.247	0.234	0.0987	0.0746	0.0689	未検出
2700	相馬沖	554	77.4	69.7	0.949	0.824	0.169	0.117	0.102	未検出
3000	相馬沖	207	36.1	35.5	0.268	0.483	0.0859	0.0768	0.0558	未検出
3300	相馬沖	492	70.6	79.6	0.624	0.681	0.163	0.306	0.0937	未検出

表 IV-5. 仁賀保地域基礎試錐堆積岩クロム酸酸化生成物中のマレイミド類の濃度と芳香族化指標

試料深度 (m)	採取地域	濃度 (pmol / g-rock)						芳香族化
		C <sub>5</sub> -C <sub>7</sub> マレイミド			C <sub>8</sub> マレイミド			指標
		MMMi	DMMi	EMMi	DEMi	M <i>n</i> PrMi	MiPrMi	
500	仁賀保	14400	1680	6200	20.9	97.0	10.9	0.00746
900	仁賀保	4880	682	25100	13.2	52.0	10.5	0.00939
1500	仁賀保	3530	804	14500	9.69	57.0	15.2	0.0201
2100	仁賀保	21800	10100	77900	127	834	95.0	0.0235
2400	仁賀保	2460	1010	9140	21.4	100	23.0	0.0435
3100	仁賀保	4370	4850	7540	31.5	238	20.8	0.378

表 IV-6. 仁賀保地域基礎試錐堆積岩クロム酸酸化生成物中のフタルイミド類の濃度

試料深度 (m)	採取地域	濃度 (pmol / g-rock)								
		フタルイミド類								
		Pi	3-MPi	4-MPi	3-EPi	4-EPi	3,4-DMPi	3,5-DMPi	3,6-DMPi	4,5-DMPi
500	仁賀保	405	76.5	54.8	15.3	19.8	5.86	3.24	3.71	3.25
900	仁賀保	207	38.3	24.9	8.61	4.53	2.22	4.20	1.48	0.30990
1500	仁賀保	241	61.5	43.7	18.1	12.8	4.31	2.74	2.95	0.630
2100	仁賀保	1820	328	274	91.8	93.5	26.6	13.3	13.9	5.64
2400	仁賀保	395	76.8	55.0	20.9	22.2	4.40	3.33	2.58	0.161
3100	仁賀保	5540	1440	2200	212	452	156	182	52.2	126

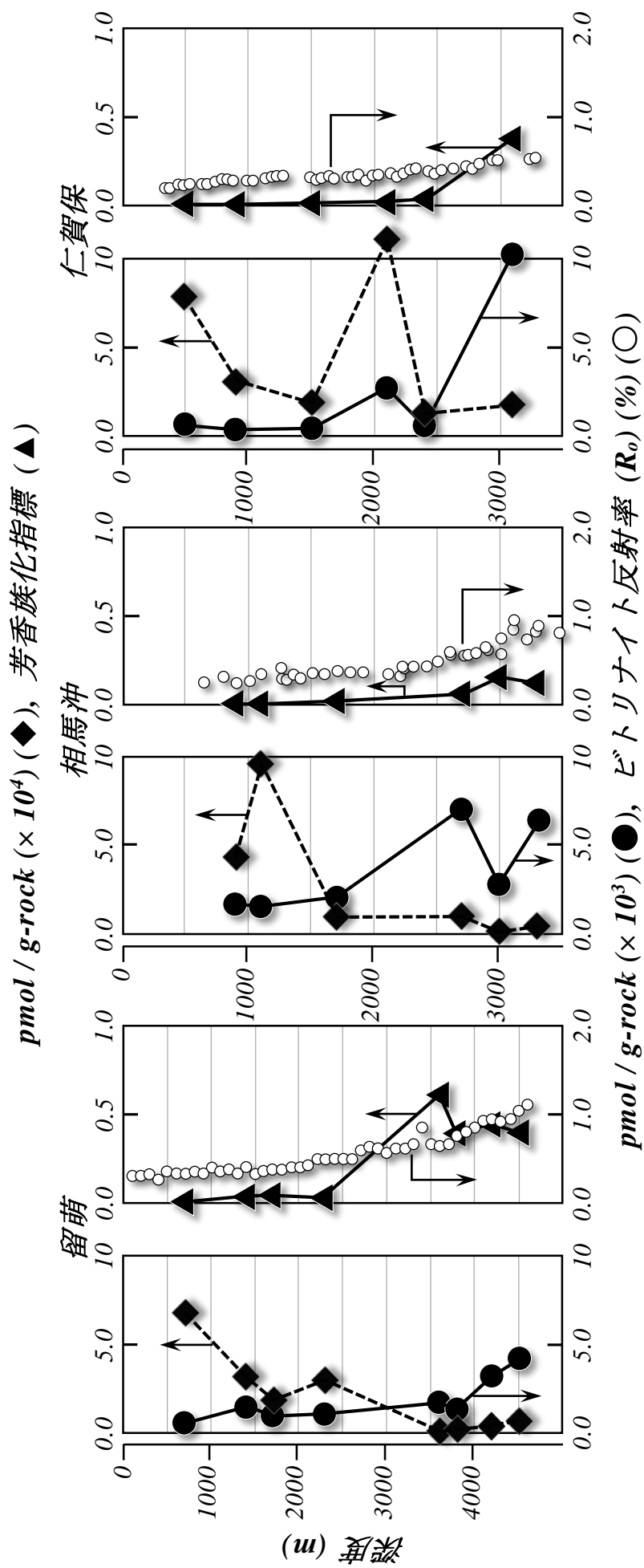


図 IV-10. 留萌，相馬沖，そして，仁賀保地域基礎試錐の総マレイミド類 ( $\blacklozenge$ )，総フタルイミド類 ( $\bullet$ )，芳香族化指標 ( $\blacktriangle$ )，およびビットリナイト反射率 ( $R_o$ ) ( $\circ$ ) の深度分布

#### IV-3-2. 結合態フタルイミド / マレイミド比とビトリナイト反射率

堆積岩中の芳香族化指標の深度分布 (図 IV-10) から、今回分析した全ての採取地点において、熟成の進んだ堆積物からはフタルイミド類の濃度が増えることが解った。また、芳香族化指標とビトリナイト反射率 ( $R_o$ ) の相関関係を検討するため、本研究で得られた堆積岩分析結果と先行研究で報告されている新庄地域堆積岩の分析結果 (Shimoyama *et al.*, 2001) を併せて考察した。新庄地域の堆積岩試料については、第 III 章の序論で既に述べたとおりである。この新庄地域堆積岩の分析を行った当時は、マレイミド類とフタルイミド類の標品がまだ少なく、同定、定量された化合物は、3 種類の  $C_5$ - $C_7$  マレイミド (MMMi, DMMi, そして, EMMi) と 3 種類のフタルイミド類 (Pi, 3-MPi, そして, 4-MPi) のみであったが、その芳香族化指標の値は 0.014 ~ 0.62 と、堆積物の熟成と共にフタルイミド類の濃度が増えたことを示す結果が得られている。これらの結果を基に、各堆積岩の芳香族化指標をビトリナイト反射率 ( $R_o$ ) に対してプロットし、それぞれの相関係数 ( $R^2, p$ ) を最小二乗法によって求めた (図 IV-11)。その結果、各堆積岩データの相関係数 ( $R^2, p$ ) は、留萌地域基礎試錐が 0.78,  $3.7 \times 10^{-3}$ , 相馬沖地域基礎試錐が 0.79,  $1.8 \times 10^{-2}$ , 仁賀保地域基礎試錐が 0.29, 0.28, 新庄地域堆積岩が 0.94,  $2.5 \times 10^{-11}$ , そして、全体の相関係数 ( $R^2, p$ ) (仁賀保地域基礎試錐 3100 m を除く) は 0.79,  $2.1 \times 10^{-13}$ , であり、ビトリナイト反射率 ( $R_o$ ) がおよそ 0.2 ~ 1.0 % の間で明瞭な相関関係が確認された。仁賀保地域基礎試錐において相関が弱い理由として、次のことが考えられる。1) 仁賀保地域基礎試錐 2400 m までは、相関係数 ( $R^2, p$ ) が 0.92,  $9.6 \times 10^{-3}$ , と強い相関性を示しており、仁賀保地域基礎試錐 3100 m のみ非常にフタルイミド類の濃度が高かったことを示す結果が得られていること、2) フタルイミド類の前駆体であるベンゾピロール骨格を有するベンゾポルフィリンは微生物分解や化学分解といった初期続成作用では形成されないことから、ベンゾポルフィリンを形成しうる炭素数の側鎖を持つバクテリオクロロフィルの供給がこの年代において多かった可能性、3) ビトリナイト反射率 ( $R_o$ ) から熟成の幅が小さいことも寄与すると考えられる。また、堆積有機物の芳香族化は、堆積物を構成する鉱物の種類による触媒能を介した反応速度差にも影響されると考えられる。バクテリオクロロフィルの供給に着目した加熱実験や堆積岩分析などのより詳細な分析が必要であり、これは第 V 章にて詳しく述べる。しかし、複数の異なる地域の分析結果で



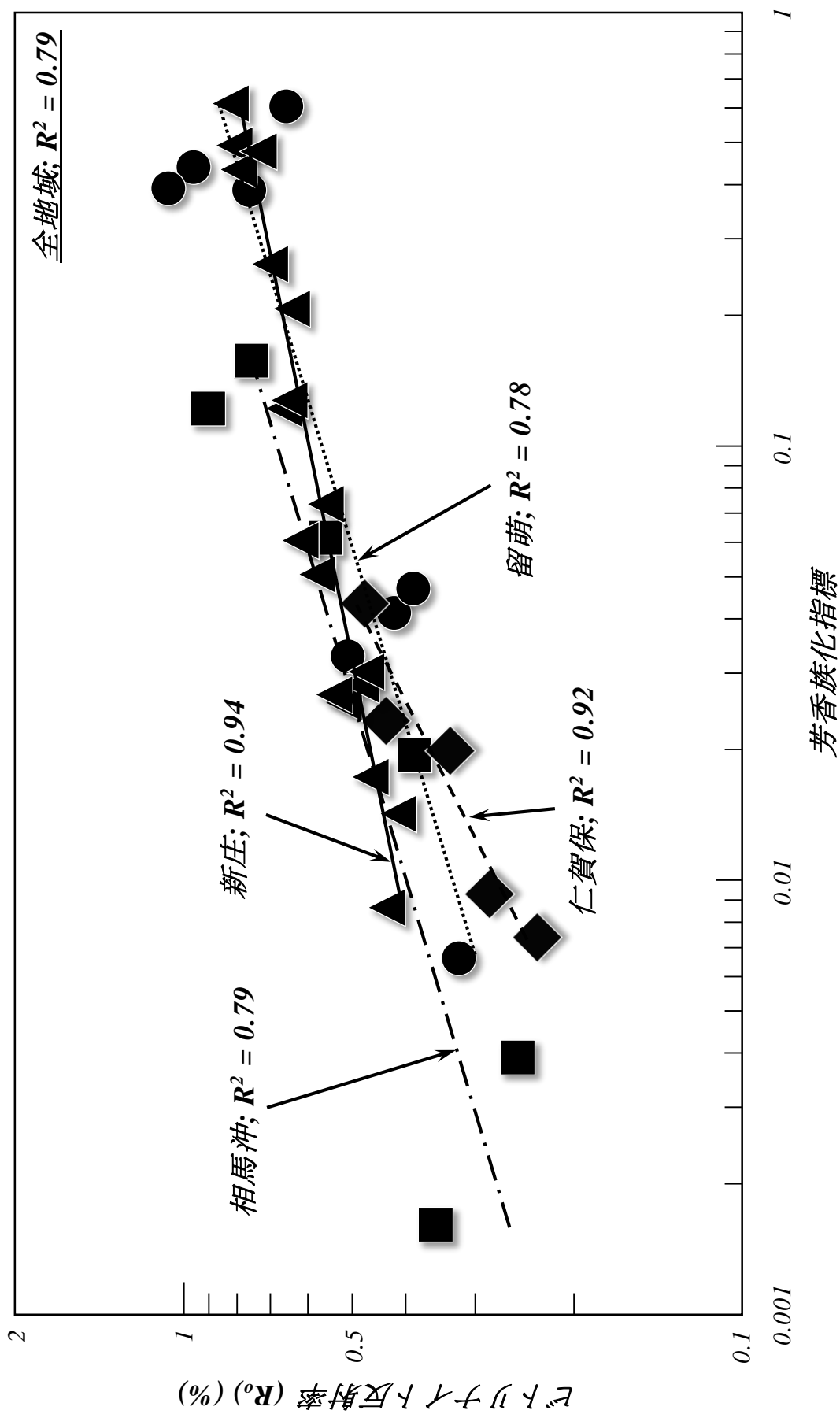


図 IV-11. ビトリナイト反射率 ( $R_0$ ) と 芳香族化指標の関係 (仁賀保地域基礎試錐 3100 m を除く)  
 ▲: 新庄地域堆積岩, ●: 留萌地域基礎試錐, ■: 相馬沖地域基礎試錐, ◆: 仁賀保地域基礎試錐

あることを踏まえても、全体の相関係数 ( $R^2$ ,  $p$ ) は良い値を示しているため、結合態フタルイミド類 / マレイミド類比を用いた芳香族化指標は熱熟成度指標になり得ると言える。また、芳香族化指標は、石油生成帯より、高熟成の範囲にまで対応できる熱熟成度指標になる可能性が高い。

#### IV-4. 第 IV 章のまとめ

第 IV 章では、堆積岩の結合態フタルイミド類 / マレイミド類比を利用した芳香族化指標が、堆積物中の有機物の新しい熱熟成度指標になり得ることを示唆した。この方法は、堆積岩から結合態フタルイミド類 / マレイミド類の濃度比を得ることがビトリナイト反射率 ( $R_o$ ) の測定に比べて比較的容易であるため、簡便に熱熟成度を求める手法になり得る。また、ケロジェンに化学結合あるいは強く保持されているポルフィリンまたは、その断片に由来する結合態マレイミド類、フタルイミド類を定量しているため、この方法で求める熱熟成度指標は、他の年代からの汚染の影響の少ない地層固有性の高い値であると考えられる。ビトリナイト反射率 ( $R_o$ ) は、堆積物の被熱の度合いを見る指標である一方で、芳香族化指標はベンゾポルフィリンのソース物質の供給の可能性も含めて示すことが出来るため、海洋無酸素事変の解明に役立つツールとなるポテンシャルも持つと考えられる。

## 第 V 章

北海道留萌地域の結合態マレイミド類を用いる  
後期白亜紀の海洋無酸素事変の分子的証拠

## 第 V 章

### 北海道留萌地域の結合態マレイミド類を用いる 後期白亜紀の海洋無酸素事変の分子的証拠

#### V-1. 序論

背景でも述べたが、生物界の大量絶滅は過去に何度も起きており (図 I-3), それらは海洋無酸素事変を伴うことが有る (図 I-4)。この海洋無酸素事変は、白亜紀において何度か発生していたと、黒色頁岩の全有機炭素量や炭素同位体比 (Jenkyns, 1991; Larson *et al.*, 1993; Harland *et al.*, 1990) から推定されている (図 V-1; Mitsugi and Hirano, 1997)。海洋無酸素事変とは、海洋などの水界の酸素欠乏状態が大規模に拡大する現象であり、酸素欠乏状態が進行すると酸化還元境界が有光層まで上昇し、そういった還元的な水環境下では、非酸素発生型緑色硫黄細菌が大量に繁殖する。すなわち、それらが有しているバクテリオクロロフィル由来物質は、海洋無酸素事変の解明に役立つツールとなるポテンシャルを持つ。バクテリオクロロフィルは、その B 環に *n*-プロピル基や *iso*-ブチル基といった酸素発生型光合成生物が保有するクロロフィルには無い特徴的な側鎖を有している (図 V-2)。以上のことから、この側鎖に着目した地層ポルフィリンの分析は、対象の地域とその層準におけるバクテリオクロロフィルの供給の痕跡を探る事に結び付き、酸素欠乏状態がそこで発生していたか否か、すなわち、海洋無酸素事変の分子的証拠を化学的根拠に基づいて証明することが出来る可能性を持つ。また、Pancost *et al.* (2002) は、ドイツ北部と南部のペルム紀の堆積物から直接抽出して得られる遊離態マレイミド類および、バナジル・ニッケルアルキルポルフィリン酸化生成物中からメチル-*iso*-ブチルマレイミド (MiBMi) を検出しており、その特徴的な構造からバクテリオクロロフィル *c*, *d*, *e* に由来するとして緑色硫黄細菌が過去に存在していたことを示す指標であると報告している。しかし、地層ポルフィリン類の続成変化として、側鎖の伸長反応も報告されている (例えば, Asahina *et al.*, 2011, 2012) ことから、クロロフィルに由来するアルキルポルフィリンの続成変化産物である MiBMi も存在する可能性が考えられるため、MiBMi の有無のみでは緑色硫黄細菌の存在を示す指標とは言い難く、クロロフィル由来の MiBMi の寄与の程度も考慮する必要があるだろう。そこで、第 V 章では、クロロフィル由来物質の寄与の程度も踏まえて、バクテ

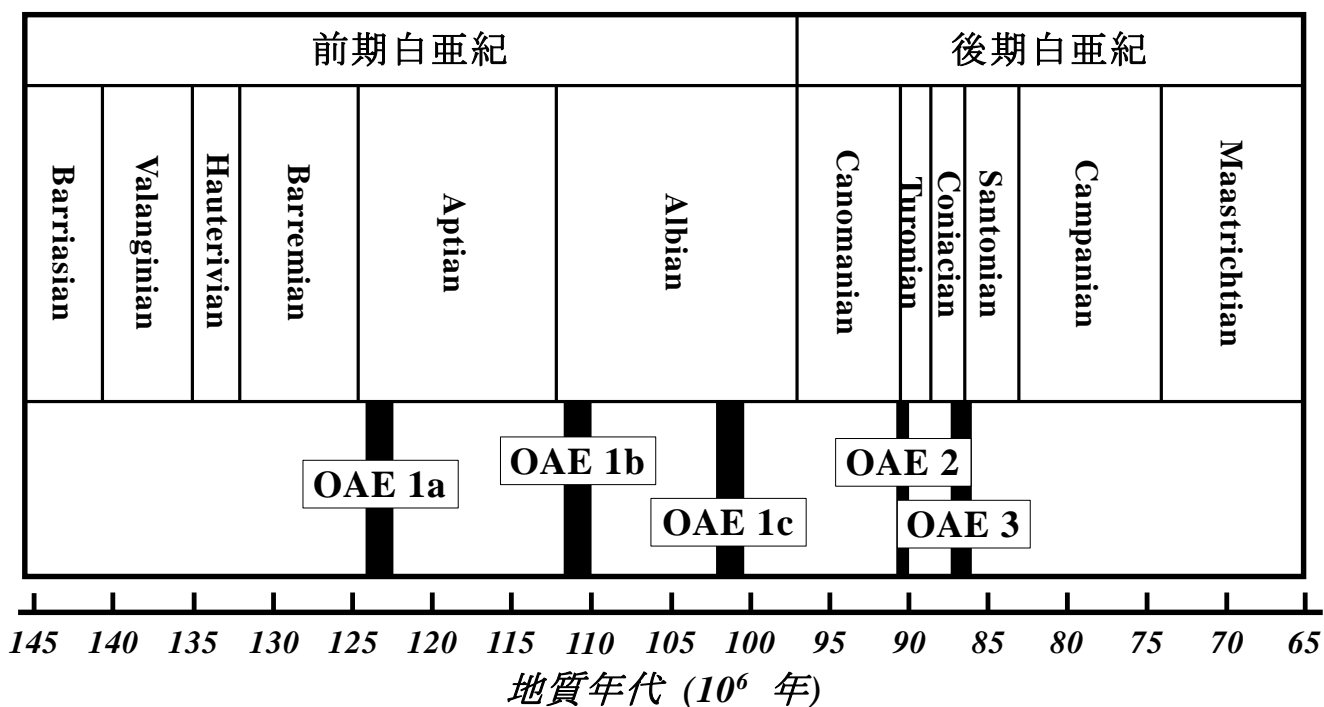
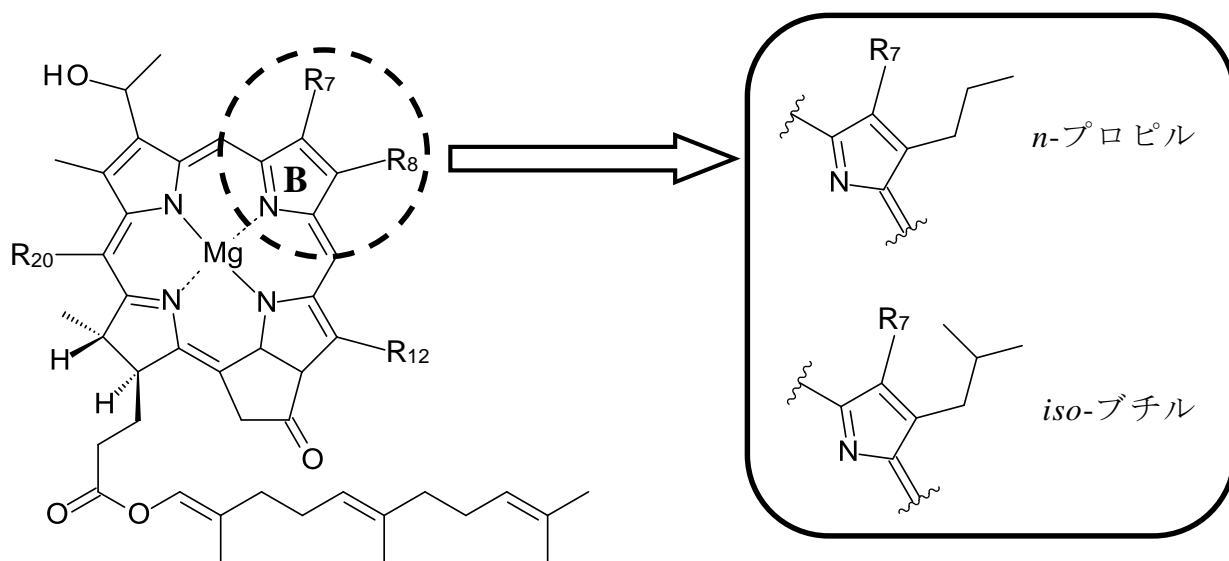


図 V-1. 全有機炭素量や炭素同位体比から推定されている  
海洋無酸素事変 (OAEs) の発生年代 (Mitsugi and Hirano, 1997)



Bacteriochlorophyll c; R<sub>7</sub> = Me, R<sub>8</sub> = Et, *n*Pr, *iso*B or *neo*Pen, R<sub>12</sub> = Me or Et, R<sub>20</sub> = Me  
 Bacteriochlorophyll d; R<sub>7</sub> = Me, R<sub>8</sub> = Et, *n*Pr, *iso*B or *neo*Pen, R<sub>12</sub> = Me or Et, R<sub>20</sub> = H  
 Bacteriochlorophyll e; R<sub>7</sub> = CHO, R<sub>8</sub> = Et, *n*Pr, *iso*B or *neo*Pen, R<sub>12</sub> = Me or Et, R<sub>20</sub> = Me

図 V-2. 緑色硫黄細菌が有するバクテリオクロロフィルと  
クロロフィルには無い特徴的な側鎖

リオクロロフィル由来地層ポルフィリンの分析手法が海洋無酸素事変の分子的反証となり得る可能性を化学的根拠に基づいて実証することを目的に、北海道留萌地域の堆積岩試料を用いて、その不溶性成分からクロム酸酸化によって得られる結合態マレイミド類と結合態フタルイミド類の分析を行った。また、バクテリオクロロフィルとクロロフィルのそれぞれの B 環に着目したモデル化合物を基質に加熱実験を行った。加熱実験に用いる基質は、着目する部位を明確にするために、シンプルな構造である必要がある。そこで、有機化学的に合成したテトラメチルテトライソブチルポルフィリン(3,8,13,18-tetra-*isobutyl*-2,7,12,17-tetra-methylporphyrin ; TMTiBP) と市販の ETIO-III (図 V-3) を用いた。なお、バクテリオクロロフィルには、特徴的な側鎖としてメチル-*n*-プロピル側鎖のものもあるが、メチル-*n*-プロピル側鎖は、エチルメチル側鎖からもある程度良く生成することが報告されている (例えば, Nomoto *et al.*, 2008) ため、本研究では、バクテリオクロロフィルのモデル化合物として TMTiBP のみ用いている。また、加熱実験は、ポルフィリンを封管中で加熱した化合物は、大部分が不溶性の高分子状態に変化するため、クロム酸酸化を用いて分析を行った。

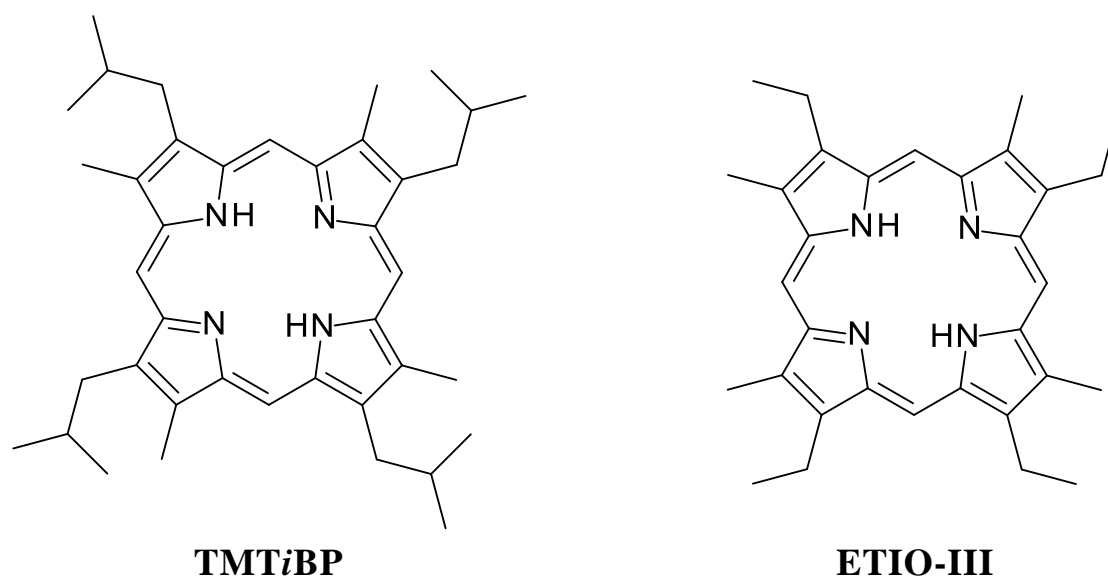


図 V-3. 加熱実験に用いるクロロフィルとバクテリオクロロフィルそれぞれの B 環に着目したモデルポルフィリン

## V-2. 実験手法

### V-2-1. 堆積岩試料

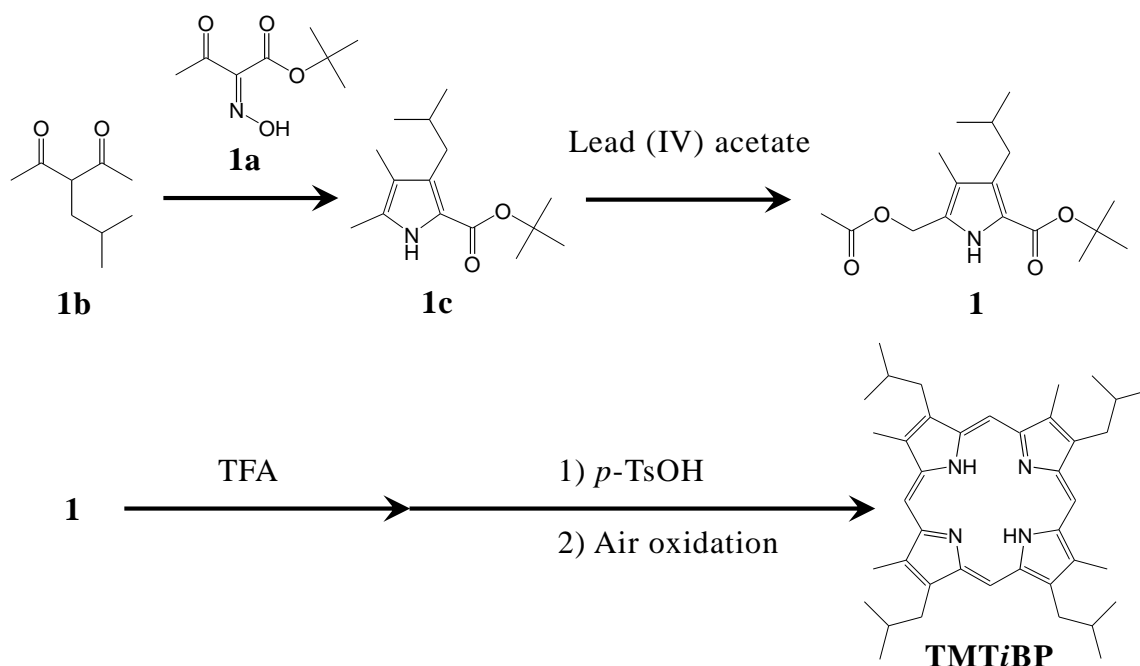
本研究では、独立行政法人石油天然ガス・金属鉱物資源機構より供与された北海道留萌地域の昭和 61 年基礎試錐のカッテングス 8 試料 (700 ~ 4510 m; 白亜紀 ~ 新第三紀) を分析に用いた。詳細については **III-2-1** を参照されたい。

### V-2-2. 堆積岩の分析

堆積岩の分析は、**II-2-2** と同様に、堆積岩試料の粉末約 5 g をベンゼン : メタノール (4 : 1 v/v) 混合溶媒を用いて超音波洗浄後、遠心分離して上澄みを取り除く操作を 5 回行い、最後にベンゼンで超音波洗浄後、遠心分離して上澄みを取り除いた。また、洗浄後の試料は凍結乾燥をした。洗浄・乾燥した試料に 25 vol% 硫酸水溶液 : 10 wt% クロム酸水溶液 (1 : 1 v/v) を用いて 0°C ~ 室温で 4 時間クロム酸酸化を行いその反応溶液をベンゼンで 5 回抽出して、有機相を乾燥後、精製などはすることなく、窒素気流下で濃縮後、GC-MS 分析を行った。分析に用いた機器やカラム、オーブンの昇温条件なども **II-2-2** と同様である。マレイミド類とフタルイミド類の同定、定量は **I-4** (図 I-6) に示した 16 種類のマレイミド類 (MMMi, DMMi, EMMi, DEMi, MnPrMi, MiPrMi, MnBMi, MiBMi, MsecBMi, EnPrMi, EiPrMi, MnPenMi, MneoPenMi, MnHexMi, THPi, MMceMi) と 9 種類のフタルイミド類 (Pi, 3-MPi, 4-MPi, 3-EPi, 4-EPi, 3,4-DMPi, 3,5-DMPi, 3,6-DMPi, 4,5-DMPi) を標品として使用して、それらのマススペクトルとリテンションタイムとの比較により行った。

### V-2-3. 加熱実験試料とその合成

モデルポルフィリン TMTiBP は、まず原料となるピロール **1** を Knorr and Lange, (1902) および, Jackson *et al.* (1985) に基づいて、 $\beta$ -ケトエステルから調整したオキシム **1a** と活性メチレン化合物 **1b** からピロール **1c** を合成後、酢酸鉛 (IV) を用いてアセチル基を導入して得た。続いて, Asahina *et al.* (2012) の手法を基に、トリフルオロ酢酸で保護基を脱離後、直接ピロール同士を重合し、空気酸化して合成したものを用いた (式 V-1)。また, ETIO は市販品を用いた。



式 V-1. TMTiBP の合成

#### V-2-4. 加熱実験

基質のポルフィリン (0.5 mg) をガラスチューブに入れ、減圧・封管した後、電気炉で加熱した (300 ~ 450°C, 1 ~ 72 時間)。加熱後、室温まで放冷して堆積岩の分析と同様に、クロム酸酸化後ベンゼン抽出し、有機相を乾燥して、特に精製することなく、窒素濃縮後に GC-MS 分析を行った。マレイミド類とフタルイミド類の同定、定量もまた、堆積岩の分析と同様に行った (Shimoyama *et al.*, 2001; Kozono *et al.*, 2002; Nomoto and Kigoshi, 2005; Asahina and Nomoto, 2012)。なお、加熱実験では、ポルフィリンを封管中で加熱すると、大部分が不溶性の高分子状物質に変化するため、クロム酸酸化法を用いている。



### V-3. 結果と考察

#### V-3-1. ガスクロマトグラム-質量分析により検出されたマレイミド類とフタルイミド類

**V-3-1-1. 堆積岩酸化生成物** 堆積岩酸化生成物中の代表的なクロマトグラムとして、留萌地域基礎試錐 3600 m を図 V-4 に示す。その他の深度については既に IV 章の図 IV-3~5 で全ての深度を示しているのものでそちらを参照されたい。堆積岩の酸化性抽出物から 11 種類の結合態マレイミド類 (MMMi, DMMi, EMMi, DEMi, MiPrMi, MnPrMi, EiPrMi, EnPrMi, MsecBMi, MiBMi, MnBMi) と 9 種類の結合態フタルイミド類 (Pi, 3-MPi, 4-MPi, 3-EPi, 4-EPi, 3,4-DMPi, 3,5-DMPi, 3,6-DMPi, 4,5-DMPi) が検出された。これらのマレイミド類、フタルイミド類の濃度の深度分布は、深度の増加と共に結合態マレイミド類の濃度が減少する傾向を示す一方で、結合態フタルイミド類は、深度の増加とともにその濃度も増加する傾向を示した。堆積物中のアルキルポルフィリン側鎖においては、続成変化に伴って芳香環の形成が起こることが強く示唆された (Yota and Nomoto, 2014a)。

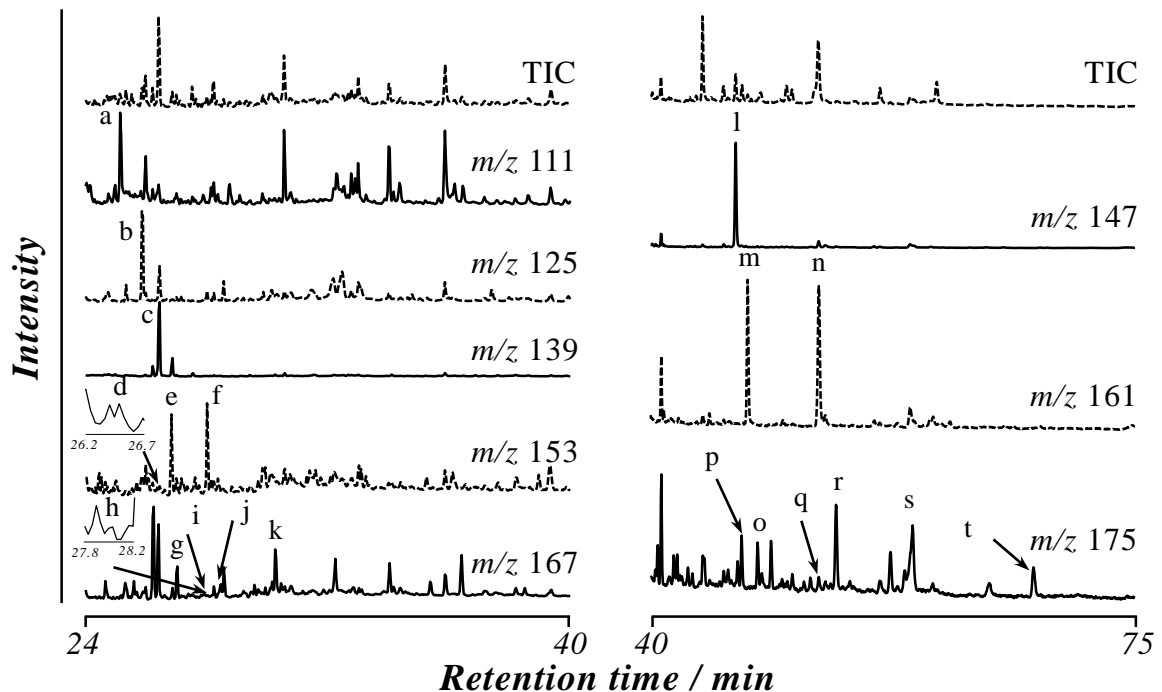


図 V-4. 留萌地域基礎試錐堆積岩 3600 m の結合態マレイミド類およびフタルイミド類のガスクロマトグラム; a: MMMi, b: DMMi, c: EMMi, d: MiPrMi, e: DEMi, f: MnPrMi, g: EiPrMi, h: MsecBMi, i: EnPrMi, j: MiBMi, k: MnBMi, l: Pi, m: 3-MPi, n: 4-MPi, o: 3,6-DMPi, p: 3-EPi, q: 4-EPi, r: 3,5-DMPi, s: 3,4-DMPi, t: 4,5-DMPi

**V-3-1-2. 加熱実験生成物** TMTiBP と ETIO-III の加熱実験後の酸化生成物の代表的なクロマトグラムを図 V-5, 6 に示す。TMTiBP の加熱実験生成物からは、6 種類のマレイミド類 (MMMi, DMMi, EMMi, MnPrMi, MiPrMi, MiBMi) と 3 種類のフタルイミド類 (Pi, 3-MPi, 4-MPi) が検出された。また、ETIO-III の加熱実験生成物からは、11 種類のマレイミド類 (MMMi, DMMi, EMMi, DEMi, MnPrMi, MiPrMi, MiBMi, MnBMi, MsecBMi, EiPrMi, EnPrMi) と 9 種類のフタルイミド類 (Pi, 3-MPi, 4-MPi, 3-Epi, 4-Epi, 3,4-DMPi, 3,5-DMPi, 3,6-DMPi, 4,5-DMPi) が検出された。ETIO-III を加熱せずにクロム酸酸化を行った実験では、基質に由来する EMMi のみが検出されている (Nomoto *et al.*, 2001b) ことから、ピロール側鎖アルキルの変化は、熱変質によるものであることは明らかである。マレイミド類とフタルイミド類の生成量は、堆積岩分析結果同様に、加熱時間と共にマレイミド類は減少する傾向を示す一方で、フタルイミド類は加熱時間と共に増加する傾向を示した。TMTiBP のピロール部位に由来する MiBMi は、経時的に減少し、およそ 5 時間半で半減した。基質のピロールよりも炭素数の少ないマレイミド類 (MMMi, DMMi など) の生成については、Kozono *et al.* (2002) によって、その生成プロセスが明らかにされており、基質のアルキル側鎖の切断により生成したと考えられる。経時的なフタルイミド類の増加、基質由来の MiBMi の減少は、バクテリオクロロフィル *c, d* の B 環側鎖が縮成変化によって芳香環を形成することを明確にしている (Asahina and Nomoto, 2012)。

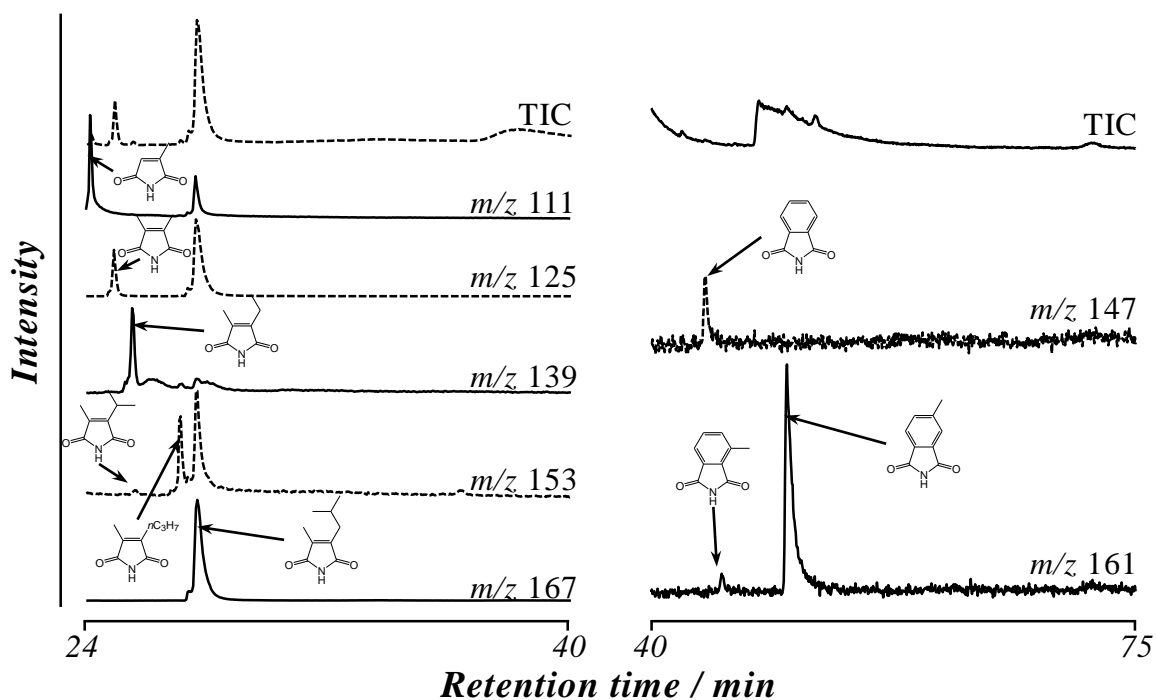


図 V-5. TMTiBP の加熱実験 (400℃, 5h) 生成物中のマレイミド類およびフタルイミド類

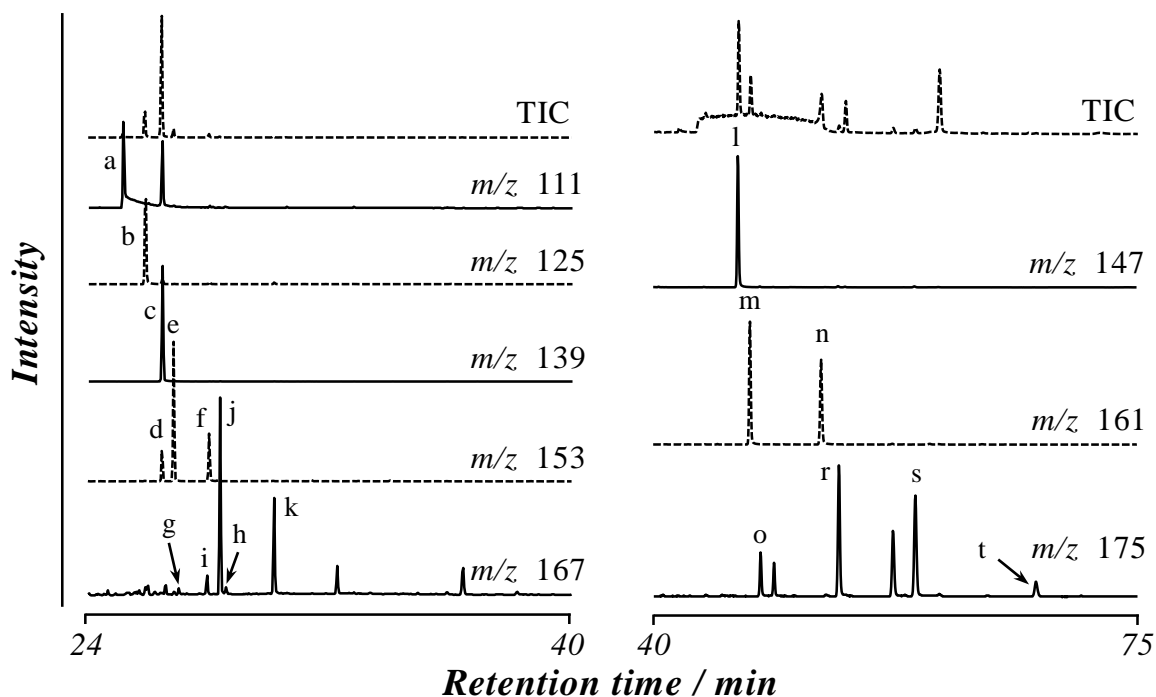


図 V-6. ETIO-III の加熱実験 (400℃, 5h) 生成物中のマレイミド類およびフタルイミド類; a: MMMi, b: DMMi, c: EMMi, d: MiPrMi, e: DEMi, f: MnPrMi, g: EiPrMi, h: MiBMi, i: MsecBMi, j: EnPrMi, k: MnBMi, l: Pi, m: 3-MPi, n: 4-MPi, o: 3,6-DMPi, r: 3,5-DMPi, s: 3,4-DMPi, t: 4,5-DMPi.

### V-3-2. 堆積岩分析と加熱実験の比較による海洋無酸素事変の分子的証拠

**V-3-2-1. 堆積岩中および加熱実験生成物中のマレイミド類とフタルイミド類の組成比の比較** 堆積岩酸化生成物中 ( $MnBMi$ ,  $MiBMi$  を含む) および  $TMTiBP$ ,  $ETIO-III$  の加熱実験で生じたマレイミド類とフタルイミド類の濃度を表 IV-2, V-1~7 に示す。堆積岩酸化生成物中のマレイミド類とフタルイミド類の組成比の深度分布と加熱実験生成物中のそれらの組成比を比較し, 異なる傾向や片方にのみ特徴的なプロットなどを示す場合は加熱実験では添加していない堆積物中の粘土鉱物などの構成要素や地層ポルフィリンの起源物質などに要因があると考えられる (Yota and Nomoto, 2014a, b)。バクテリオクロロフィルが多く存在していた層準には, バクテリオクロロフィルの B 環に由来する  $MiBMi$  やメチル-*iso*-ブチル側鎖は芳香環を形成するために必要な炭素数を既に備えていることからフタルイミド類が多く存在すると予想される。そこで, 本研究で得られた加熱実験生成物の分析結果と留萌地域基礎試錐の分析結果から総フタルイミド類 / 総マレイミド類比 (総  $Pis$  / 総  $Mis$  比), 4-メチルフタルイミド / 3-メチルフタルイミド比 ( $4-MPi$  /  $3-MPi$  比) やフタルイミド類同族体生成比, そして,  $MiBMi$  /  $MnBMi$  比を求めた。堆積岩分析では今述べた比の深度分布, 加熱実験では深度分布に対応するパラメータとして加熱時間または, III 章で述べ脱メチル化指標 (D.I. 値) を用いてプロットし, それぞれを比較した。

表 V-1. 留萌地域基礎試錐堆積岩クロム酸酸化生成物中のマレイミド類 (*MnBMi*, *MiBMi* を含む) と  
 総 *Pis* / 総 *Mis*, 4-M*Pi* / 3-M*Pi*, *MiBMi* / *MnBMi* 比と D.I. 値

試料深 度 (m)	採取 地域	濃度 (pmol / g-rock)							
		C <sub>5</sub> -C <sub>7</sub> マレイミド			C <sub>8</sub> マレイミド			C <sub>9</sub> マレイミド	
		MMMi	DMMi	EMMi	DEMi	M <i>n</i> PrMi	M <i>i</i> PrMi	M <i>n</i> BMi	M <i>i</i> BMi
700	留萌	45780	779	21600	18.1	108	32.7	30.2	8.1
1400	留萌	6880	1300	23700	38.9	150	63.1	48.5	13.0
1700	留萌	3900	844	13600	20.0	83.0	36.0	32.2	9.93
2300	留萌	5780	1400	222000	43.8	189	74.6	85.8	11.4
3600	留萌	405	151	474	2.53	17.3	4.31	4.32	6.82
3800	留萌	379	173	1290	9.46	73.1	11.6	18.0	12.1
4200	留萌	1480	591	1810	12.3	117	10.4	32.6	12.4
4510	留萌	3280	1450	960	7.66	128	11.8	36.5	22.7

試料深 度 (m)	採取 地域	総 <i>Pis</i>	D.I. 値	M <i>i</i> BMi	4-M <i>Pi</i>
		総 <i>Mis</i>		M <i>n</i> BMi	3-M <i>Pi</i>
700	留萌	0.0162	0.0348	0.269	0.763
1400	留萌	0.0433	0.0520	0.268	1.35
1700	留萌	0.0493	0.0583	0.309	1.04
2300	留萌	0.0337	0.0593	0.133	1.37
3600	留萌	1.55	0.241	1.58	2.25
3800	留萌	0.634	0.118	0.634	1.54
4200	留萌	0.770	0.247	0.382	1.92
4510	留萌	0.647	0.601	0.623	1.40

表 V-2. TMTiBP の加熱実験生成物中のマレイミド類の濃度および総 Pis / 総 Mis 比

加熱温度 (°C)	加熱時間 (h)	濃度 (pmol / $\mu$ L)								総 Pis
		C <sub>5</sub> -C <sub>7</sub> マレイミド			C <sub>8</sub> マレイミド		C <sub>9</sub> マレイミド			総 Mis
		MMMi	DMMi	EMMi	DEMi	MnPrMi	MiPrMi	MnBMi	MiBMi	
300	24	10.5	8.54	0.452	n.d.	0.668	0.668	n.d.	3430	0.00515
300	72	1.50	1.23	0.987	n.d.	0.712	0.0615	n.d.	181	0.0106
350	24	59.5	62.5	3.04	n.d.	4.44	0.550	n.d.	833	0.0344
350	72	69.1	51.3	5.52	0.0492	7.73	0.285	n.d.	302	0.0917
400	1	64.2	52.6	2.87	n.d.	5.09	0.556	n.d.	823	0.0409
400	2	19.2	14.5	3.70	0.00526	1.54	0.208	n.d.	268	0.0280
400	4	56.3	50.3	2.76	0.0161	3.99	0.224	n.d.	292	0.0571
400	5	25.1	20.5	0.784	n.d.	0.912	0.0525	n.d.	34.6	0.0881
400	24	22.6	15.3	0.856	n.d.	0.414	n.d.	n.d.	7.55	0.139
400	36	68.2	43.5	2.49	n.d.	1.72	0.117	n.d.	23.9	0.123
400	48	20.8	11.1	0.580	n.d.	0.539	n.d.	n.d.	5.03	0.160

n.d.; not detected

表 V-3. TMTiBP の加熱実験生成物中のフタルイミド類の濃度

加熱温度 (°C)	加熱時間 (h)	濃度 (pmol / $\mu$ L)								
		フタルイミド類								
		Pi	3-MPi	4-MPi	3-EPi	4-EPi	3,4-DMPi	3,5-DMPi	3,6-DMPi	4,5-DMPi
300	24	n.d.	n.d.	17.1	n.d.	n.d.	n.d.	0.668	n.d.	n.d.
300	72	0.977	n.d.	0.991	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
350	24	0.913	0.264	29.6	n.d.	n.d.	n.d.	1.17	n.d.	1.26
350	72	2.66	0.426	33.8	n.d.	n.d.	0.578	1.30	n.d.	1.21
400	1	1.39	0.315	33.0	n.d.	0.78	0.640	1.31	n.d.	1.39
400	2	1.04	n.d.	7.27	n.d.	n.d.	n.d.	0.292	n.d.	n.d.
400	4	1.99	0.314	19.6	n.d.	n.d.	n.d.	0.631	n.d.	0.588
400	5	0.686	0.124	6.40	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
400	24	1.13	0.349	5.01	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
400	36	1.95	0.430	14.3	n.d.	n.d.	n.d.	0.570	n.d.	n.d.
400	48	1.01	0.256	4.82	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

n.d.; not detected

表 V-4. ETIO-III の加熱実験生成物中のマレイミド類の濃度および総 Pis / 総 Mis, MiBMi / MnBMi 比と D.I. 値  
(300-350°C)

加熱温 度 (°C)	加熱時 間 (h)	濃度 (pmol / $\mu$ L)								総 Pis	MiBMi	D.I. 値
		C <sub>5</sub> -C <sub>7</sub> マレイミド			C <sub>8</sub> マレイミド			C <sub>9</sub> マレイミド		総 Mis	MnBMi	
		MMMi	DMMi	EMMi	DEMi	MnPrMi	MiPrMi	MnBMi	MiBMi			
300	72	5.27	7.25	3170	2.27	0.570	1.07	0.141	0.0177	0.00143	0.126	0.00228
300	144	3.86	5.91	2070	1.85	0.501	0.952	0.123	0.00815	0.00119	0.0661	0.00285
300	216	4.68	7.63	2070	2.10	0.532	0.741	0.158	0.00898	0.00155	0.0569	0.00367
300	288	4.33	8.49	2090	1.92	0.572	0.761	0.161	0.00562	0.00170	0.0350	0.00404
300	360	4.00	7.77	1760	1.62	0.482	0.545	0.161	0.0111	0.00202	0.0689	0.00440
350	2	1.33	3.22	1590	1.02	0.214	0.684	0.0635	0.00241	0.000856	0.0380	0.00202
350	4	2.50	5.38	962	1.53	0.362	0.492	0.139	0.00468	0.00116	0.0338	0.00556
350	6.5	3.48	7.41	1090	2.16	0.459	0.568	0.190	0.00634	0.00133	0.0335	0.00677
350	12	7.52	14.0	1410	3.36	0.796	0.887	0.352	0.0128	0.00186	0.0364	0.00985
350	24	6.32	15.8	406	2.59	0.874	0.607	0.518	0.0186	0.00554	0.0358	0.0376
350	48	32.2	57.6	650	5.83	2.52	1.26	0.542	0.0195	0.0126	0.0361	0.0814



表 V-5. ETIO-III の加熱実験生成物中のマレイミド類の濃度および総 Pis / 総 Mis, MiBMi / MnBMi 比と D.I. 値  
(400-450°C)

加熱温 度 (°C)	加熱時 間 (h)	濃度 (pmol / μL)								総 Pis	MiBMi	D.I. 値
		C <sub>5</sub> -C <sub>7</sub> マレイミド			C <sub>8</sub> マレイミド			C <sub>9</sub> マレイミド		総 Mis	MnBMi	
		MMMi	DMMi	EMMi	DEMi	MnPrMi	MiPrMi	MnBMi	MiBMi			
400	1	165	131	662	21.8	8.52	1.48	6.88	0.107	0.0283	0.0156	0.165
400	3	60.9	63.0	2720	12.5	3.34	1.68	1.83	0.0186	0.00476	0.0102	0.0226
400	6	16.4	24.3	17.1	1.26	0.602	1.21	0.0451	0.00669	0.195	0.148	0.587
400	12	9.54	18.5	13.6	1.33	0.676	0.999	0.0596	0.0127	0.207	0.213	0.577
400	24	2.66	4.13	2.28	0.536	0.105	0.525	0.00455	0.00110	0.243	0.241	0.644
400	48	1.53	2.70	1.50	0.668	0.116	0.826	0.00608	0.00223	0.301	0.366	0.643
450	1	37.8	35.2	65.5	1.86	0.968	0.781	0.159	0.00711	0.0789	0.0447	0.349
450	2	21.1	11.0	6.64	1.16	0.256	1.58	0.0149	0.00218	0.163	0.146	0.623
450	3	20.1	11.9	8.90	0.901	0.234	0.940	0.0738	0.00313	0.135	0.0424	0.572
450	4	11.1	5.01	2.40	0.806	1.71	1.04	0.0318	n.d.	0.255	—	0.676
450	5	1.88	1.44	0.563	0.436	0.0938	0.522	0.00505	n.d.	0.312	—	0.719
450	6	7.96	4.63	2.03	0.960	0.187	1.42	0.0323	0.00437	0.224	0.135	0.695
450	12	2.14	1.60	0.370	0.429	0.0993	1.09	n.d.	n.d.	0.308	—	0.812
450	24	2.34	1.88	0.382	0.810	0.134	1.17	n.d.	n.d.	0.0691	—	0.831
450	48	6.16	2.83	0.593	0.621	0.119	0.953	n.d.	n.d.	0.116	—	0.827

n.d.; not detected

表 V-6. ETIO-III の加熱実験生成物中のフタルイミド類の濃度および 4-MPi / 3-MPi 比 (300-350℃)

加熱温 度 (°C)	加熱時 間 (h)	濃度 (pmol / $\mu$ L)									4-MPi
		フタルイミド類									3-MPi
		Pi	3-MPi	4-MPi	3-EPi	4-EPi	3,4-DMPi	3,5-DMPi	3,6-DMPi	4,5-DMPi	
300	72	3.46	0.536	0.379	0.0294	0.0583	0.0608	0.0331	n.d.	n.d.	0.706
300	144	1.76	0.356	0.255	0.00763	0.0362	0.0380	0.0218	n.d.	n.d.	0.718
300	216	2.44	0.359	0.294	0.00865	0.0405	0.0502	0.0355	n.d.	n.d.	0.821
300	288	2.74	0.431	0.305	0.00958	0.0343	0.0437	0.0261	n.d.	n.d.	0.707
300	360	2.74	0.400	0.321	0.0104	0.0382	0.0421	0.0296	n.d.	n.d.	0.804
350	2	1.00	0.233	0.131	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.561
350	4	0.758	0.252	0.115	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.454
350	6.5	0.954	0.327	0.182	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.555
350	12	1.63	0.555	0.334	n.d.	0.0451	0.0499	0.0403	0.0130	n.d.	0.603
350	24	1.44	0.504	0.304	0.0148	0.0382	0.0447	0.0414	0.0122	n.d.	0.603
350	48	5.56	1.83	0.144	0.0617	0.161	0.175	0.163	0.0517	0.0219	0.787

n.d.; not detected

表 V-7. ETIO-III の加熱実験生成物中のフタルイミド類の濃度および 4-MPi / 3-MPi 比 (400-450℃)

加熱温 度 (℃)	加熱時 間 (h)	濃度 (pmol / $\mu$ L)									4-MPi
		フタルイミド類									3-MPi
		Pi	3-MPi	4-MPi	3-Epi	4-Epi	3,4-DMPi	3,5-DMPi	3,6-DMPi	4,5-DMPi	
400	1	15.5	5.35	4.96	0.181	0.668	0.651	0.598	0.169	0.0948	0.926
400	3	8.10	2.42	2.19	0.0558	0.252	0.313	0.216	0.0515	0.0411	0.903
400	6	6.45	2.21	2.25	0.0691	0.235	0.226	0.270	0.0860	0.0604	1.02
400	12	4.76	1.75	1.93	0.00599	0.224	0.191	0.240	0.0670	0.0517	1.10
400	24	1.30	0.488	0.447	0.0163	0.0511	0.0485	0.0699	0.0236	0.0358	0.916
400	48	1.21	0.408	0.402	0.0179	0.0315	0.0400	0.0605	0.0260	0.0134	0.984
450	1	6.29	2.00	2.09	0.0759	0.229	0.210	0.225	0.0736	0.0433	1.05
450	2	4.97	1.27	0.139	0.0326	0.0901	0.103	0.131	0.0421	0.0339	0.109
450	3	3.47	1.03	0.958	0.0281	0.0810	0.0815	0.104	0.0350	0.0273	0.926
450	4	3.62	0.844	0.922	0.0196	0.0539	0.0531	0.0791	0.0240	0.0265	1.09
450	5	1.07	0.210	0.212	n.d.	n.d.	0.0146	0.0175	0.0101	n.d.	1.01
450	6	2.51	0.595	0.590	0.0133	0.0275	0.0379	0.0515	0.0199	0.0158	0.993
450	12	1.27	0.195	0.238	0.0102	0.0128	0.0114	0.0148	0.00899	0.00862	1.22
450	24	0.113	0.168	0.183	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	1.09
450	48	1.05	0.121	0.137	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	1.13

n.d.; not detected

**V-3-2-2. 堆積岩中および加熱実験生成物中の総フタルイミド / 総マレイミド比** 堆積岩中の総 Pis / 総 Mis 比の深度分布を図 V-7 に、TMTiBP と ETIO-III の加熱実験生成物中の総 Pis / 総 Mis 比を加熱時間に対してプロットしたグラフを図 V-8 に示す。堆積岩中、加熱実験生成物中共に熱熟成の進行に伴ってフタルイミド類の濃度が増える傾向が認められた。一方で、後期白亜紀の層準 (3600 m) において、総 Pis / 総 Mis 比が傾向から正側に外れる特徴を示した。TMTiBP と ETIO-III の加熱実験を 300 ~ 350℃ で 1 ~ 360 時間行った結果より、TMTiBP は ETIO-III より芳香環を良く生成する傾向を示した。アルキル側鎖の熱変質による芳香環形成の反応機構として、芳香環を形成するために必要な炭素数の側鎖をすでに備えている TMTiBP は、直接側鎖の閉環後芳香族化し (式 V-2; Asahina and Nomoto, 2012), ETIO-III は増炭反応を経由して芳香環を形成する (式 V-3; Nomoto *et al.*, 2008, Asahina *et al.*, 2011)。この機構からも TMTiBP が ETIO-III よりも効率よくフタルイミド類を生成するのは明らかである。すなわち、上述の層準には、メチル-*iso*-ブチルピロール部位を有する地層ポルフィリンの供給が多かった可能性が考えられる。

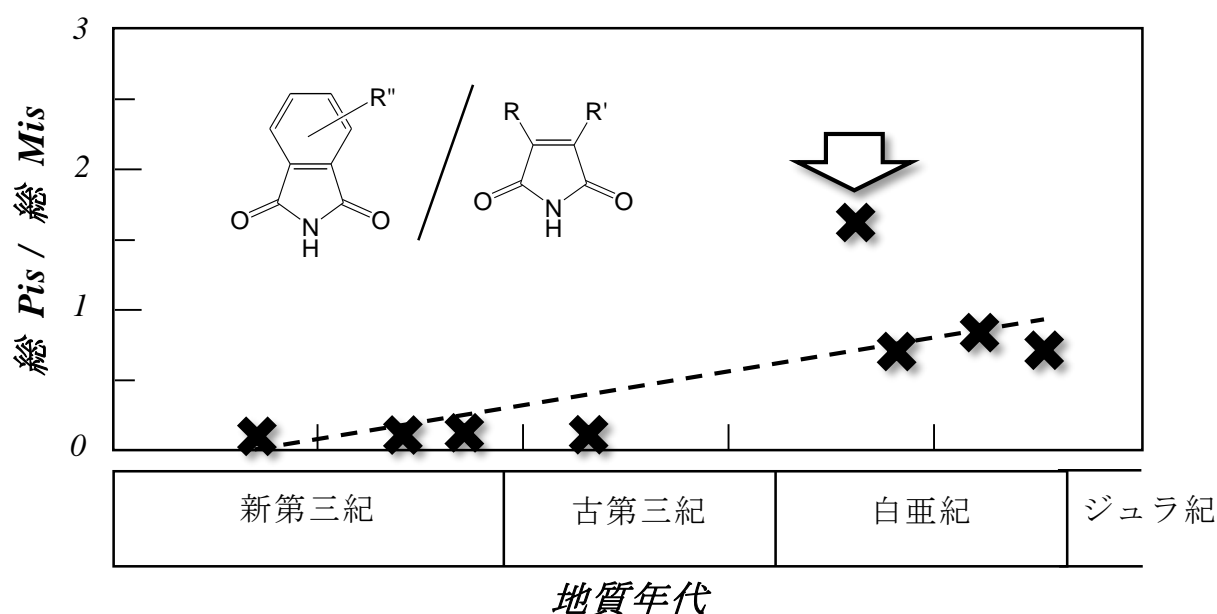


図 V-7. 留萌地域基礎試錐堆積岩中の総 Pis / 総 Mis 比の深度分布

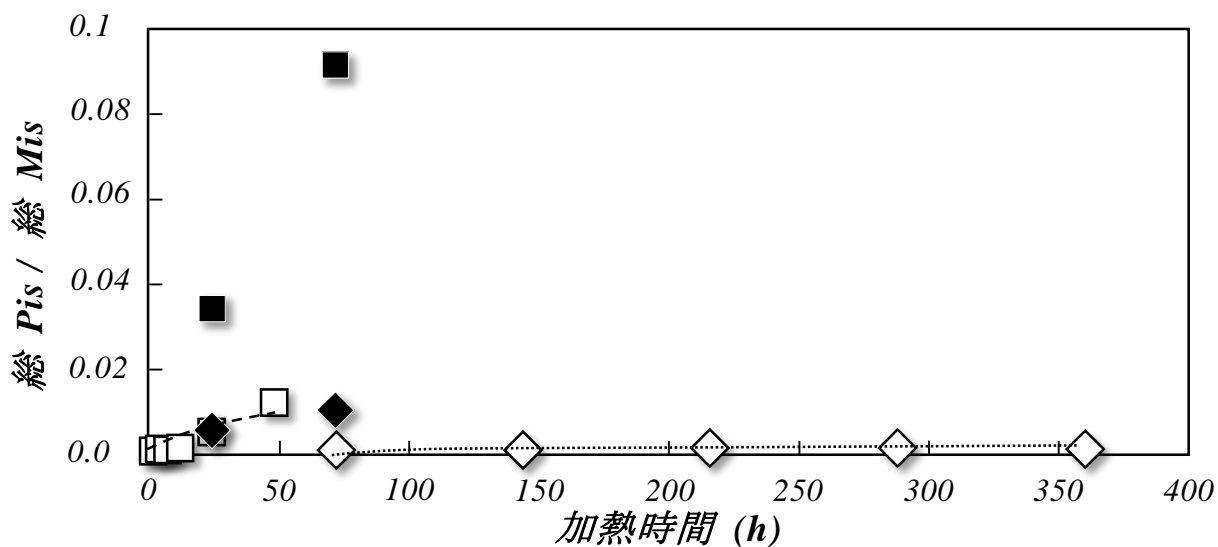
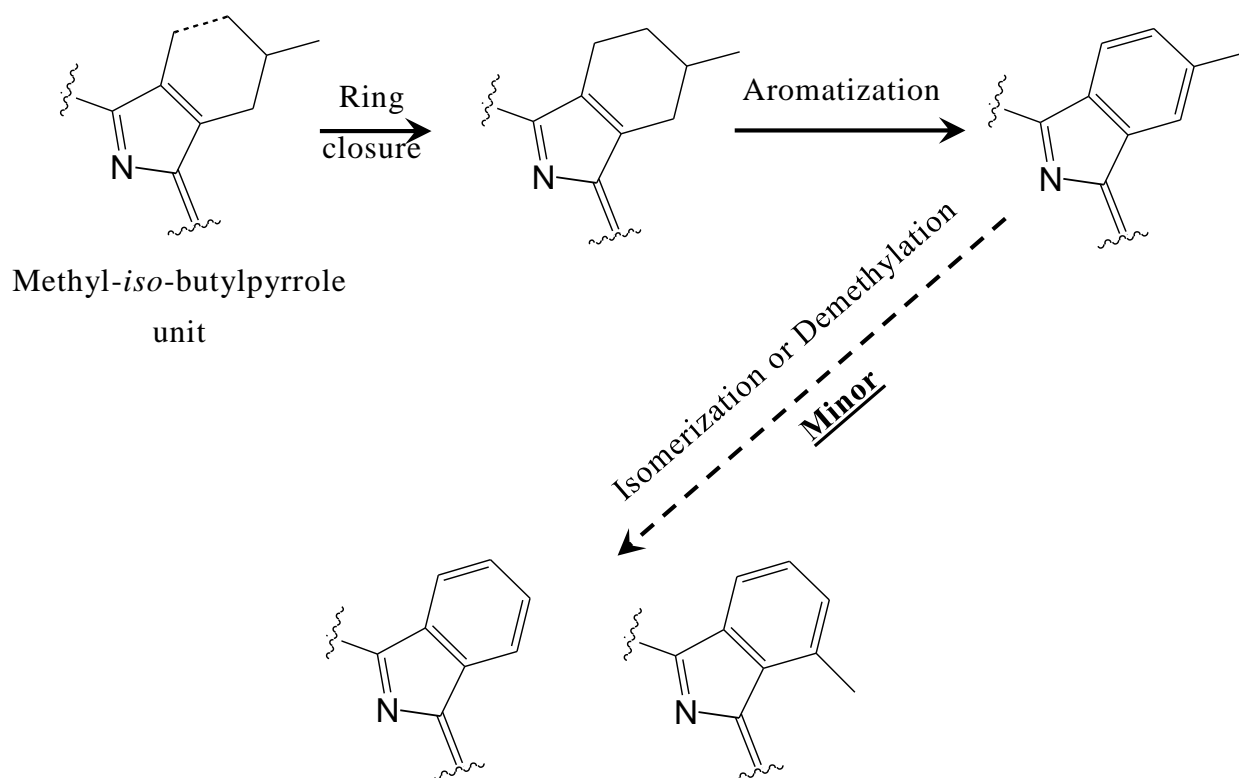
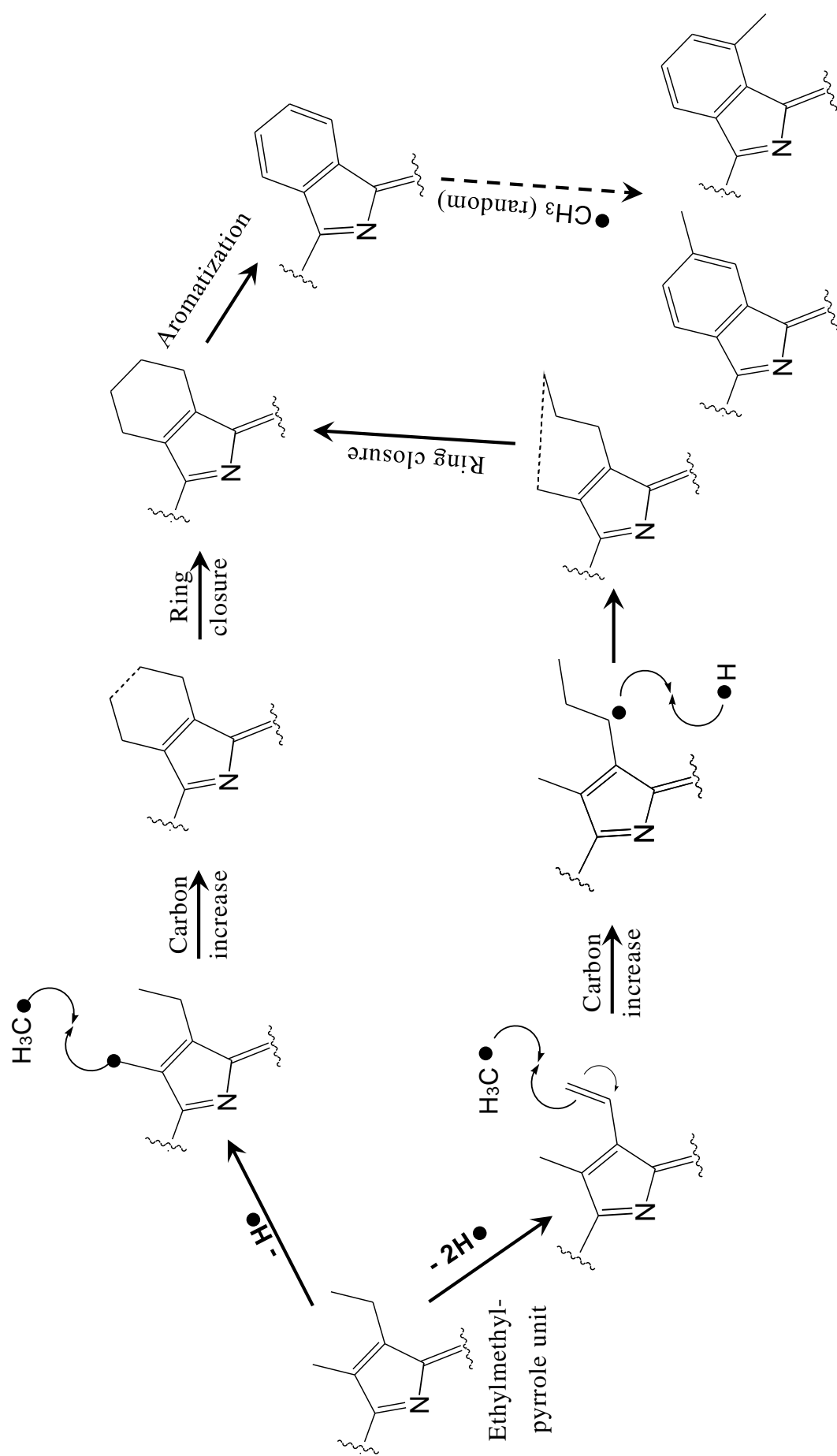


図 V-8. TMTiBP と ETIO-III の加熱実験生成物中の加熱時間に対する  
 総 Pis / 総 Mis 比 ◆: TMTiBP 300°C, ■: TMTiBP 350°C,  
 ◇: ETIO-III 300°C, □: ETIO-III 350°C



式 V-2. メチル-*iso*-ブチルピロール部位の熱変質による芳香環の  
 形成メカニズム (Asahina and Nomoto, 2012)



式 V-3. エチルメチルピロール部位の増炭反応を経由する芳香環の形成メカニズム (Nomoto *et al.*, 2008, Asahina *et al.*, 2011)

**V-3-2-3. 堆積岩中の 4-メチルフタルイミド / 3-メチルフタルイミド比と加熱実験生成物中のフタルイミド類同族体生成比** メチル-*iso*-ブチルピロール部位を有する地層ポルフィリンが多い層準であるならば、メチル-*iso*-ブチル側鎖が、直接閉環後芳香族化して形成される 4-メチルベンゾピロールが優位に存在していると考えられる (式 V-2, 3)。そこで、堆積岩中の 4-MPi / 3-MPi 比と ETIO-III の加熱実験生成物中の 4-MPi / 3-MPi 比, TMTiBP と ETIO-III の加熱実験生成物中のフタルイミド類同族体生成比を比較した。その結果 (図 V-9 ~ 12), 堆積岩中および ETIO-III の加熱実験生成物中の 4-MPi / 3-MPi 比は共に熟成に伴って緩やかに増加する傾向を示した。この傾向は、熱熟成によって形成した 3-メチル体が、立体障害の少ない 4-位へメチル基の異性化が緩やかに進行することに起因していると考えられる。4-MPi / 3-MPi 比もまた、後期白亜紀の層準 (3600 m) において、傾向から正側に外れる特徴を示した。加熱実験生成物中のフタルイミド類の同族体比より、TMTiBP は、4-メチル体をもっとも優位に形成し、無置換体や 3-メチル体の形成はマイナーであった。一方で、ETIO-III は無置換体を最も優位に形成し、4-メチル体と 3-メチル体の形成はマイナーで、何れも同程度であった。バクテリオクロロフィルは B 環にメチル-*iso*-ブチル側鎖以外にもメチル-*n*-プロピル側鎖を有しているものも存在する。Asahina and Nomoto. (2012) によるメチル-*n*-プロピルピロール骨格のみを持つモデルポルフィリンの加熱実験生成物中のフタルイミド類同族体比は TMTiBP のそれとは異なるプロフィールを与えており、無置換体に続いて、4-メチル体の形成が優位であり、3-メチル体の形成はマイナーであった。どちらにしても、バクテリオクロロフィルの B 環ピロール側鎖は、熱熟成によって芳香族化すると 4-メチルベンゾピロール骨格を優位に形成するのは明らかである。一方で、クロロフィルの B 環ピロール部位から形成する 4-メチルベンゾピロール骨格はマイナーであることから、4-MPi / 3-MPi 比が傾向から正側に外れる特徴を示す層準には、メチル-*iso*-ブチルピロール部位を有する地層ポルフィリンの供給が多かった可能性を支持する。

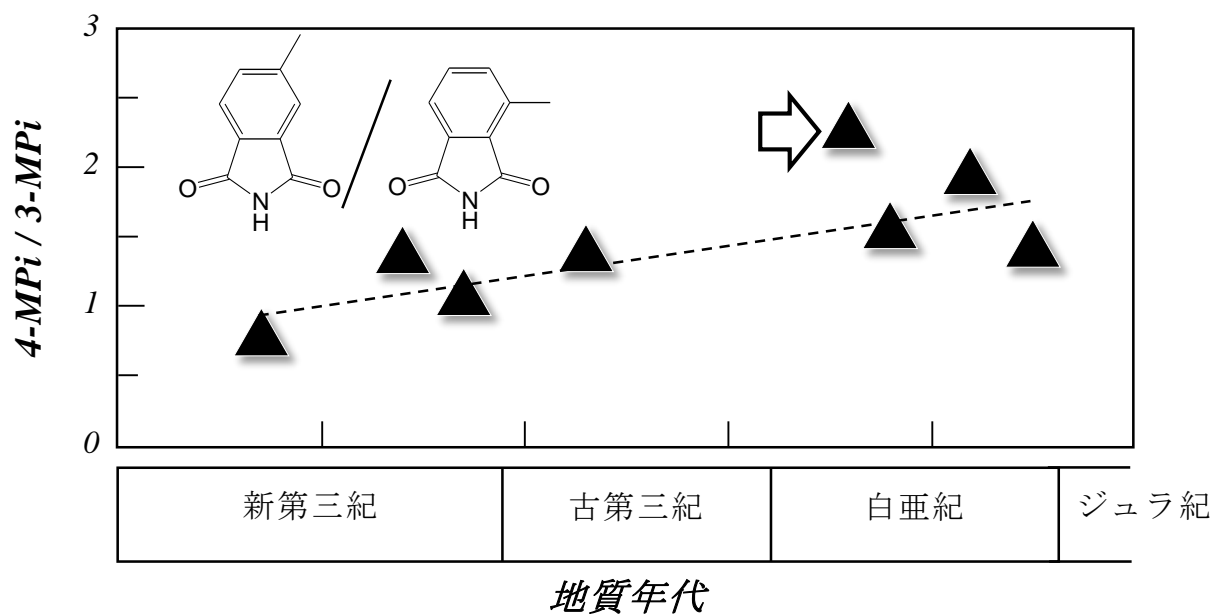


図 V-9. 留萌地域基礎試錐堆積岩中の 4-MPi / 3-MPi 比の深度分布

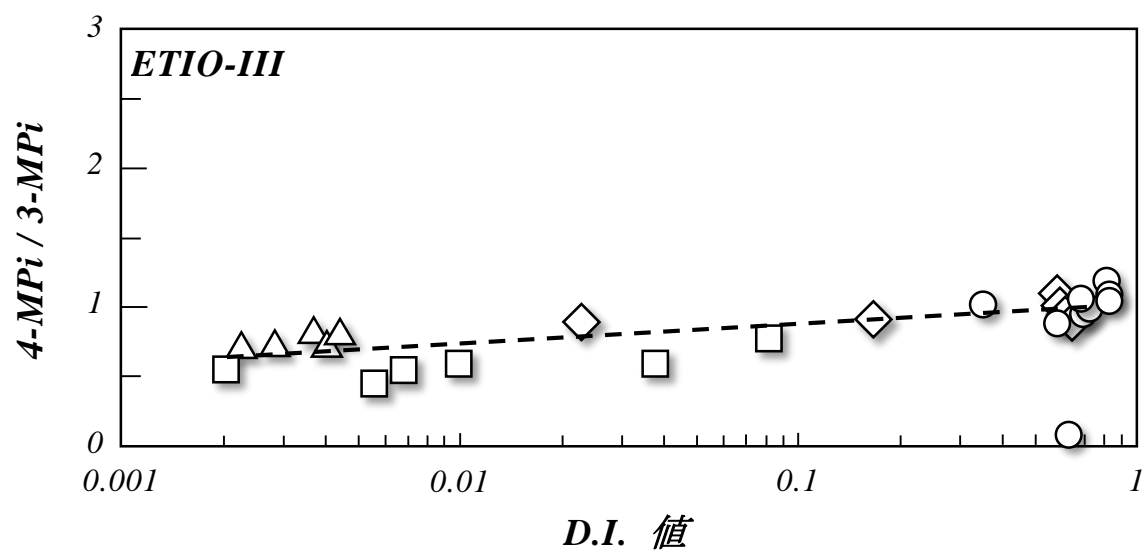


図 V-10. ETIO-III の加熱実験生成物中の D.I. 値に対する 4-MPi / 3-MPi 比  
 $\triangle$ : 300°C,  $\square$ : 350°C,  $\diamond$ : 400°C,  $\circ$ : 450°C



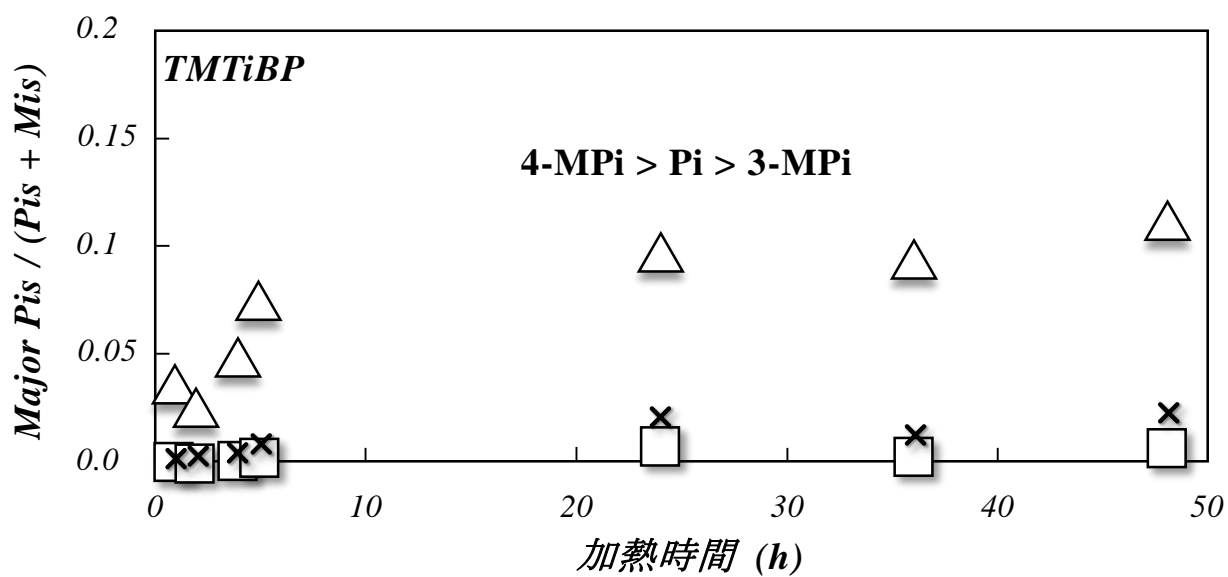


図 V-11. TMTiBP の加熱実験生成物中の加熱時間に対する  
フタルイミド類同族体生成比 △: 4-MPi, ×: Pi, □: 3-MPi

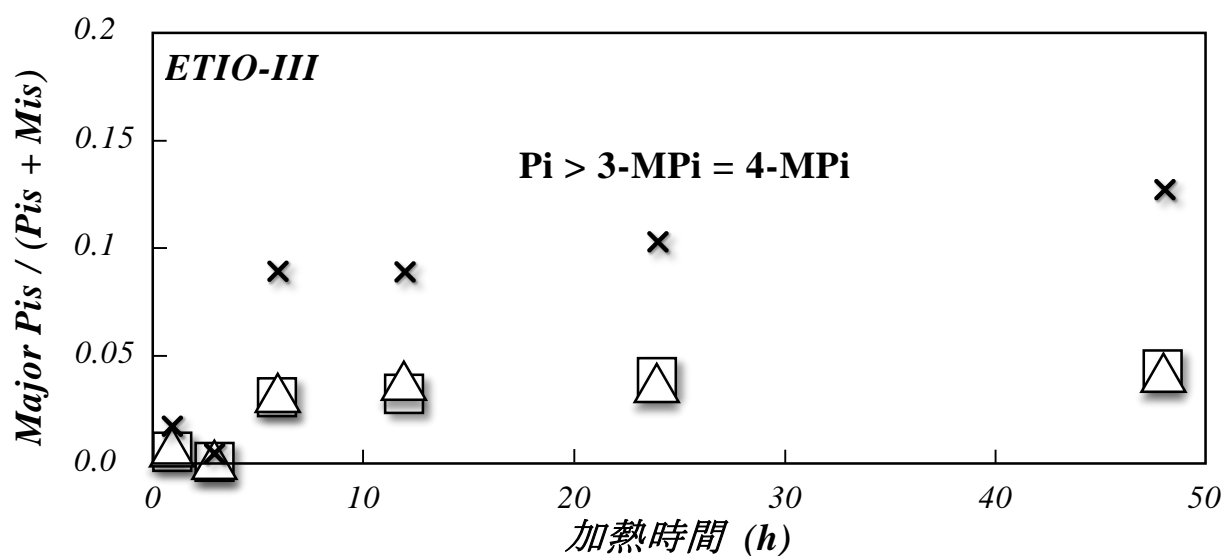


図 V-12. ETIO-III の加熱実験生成物中の加熱時間に対する  
フタルイミド類同族体生成比 △: 4-MPi, ×: Pi, □: 3-MPi

**V-3-2-4. 堆積岩中および加熱実験生成物中のメチル-*iso*-ブチルマレイミド / メチル-*n*-ブチルマレイミド比** TMTiBP の加熱実験分析結果 (図 V-5, 表 V-2) から、未反応のメチル-*iso*-ブチル側鎖も確認されている。すなわち、バクテリオクロフィル由来の地層ポルフィンの供給が多かった層準である場合、続成変化を免れたメチル-*iso*-ブチルピロール部位を有する地層ポルフィリンが多く存在する可能性が高い。しかし、メチル-*iso*-ブチル側鎖はエチルメチル側鎖からもわずかではあるが生成する (図 V-6; h) ため、これだけでは、バクテリオクロフィルの存在を議論することは難しいだろう。そこで、エチルメチル側鎖に由来する **MiBMi** の量も考慮した値として、**C<sub>9</sub>** マレイミドの中ではエチルメチル側鎖から最も良く生成される **MnBMi** (図 V-6; k) との比の深度分布と **ETIO-III** の加熱実験生成物中のその比を **D.I.** 値に対してプロットし比較した。なお、エチルメチル側鎖から **C<sub>9</sub>** マレイミドの中では最もよく生成する **MnBMi** については、アルキルポルフィン側鎖は直鎖に伸長しやすいことが報告されている (例えば, Asahina *et al.*, 2011) ことから説明できる。比較の結果 (図 V-13, 14), 堆積岩中の **MiBMi / MnBMi** 比の深度分布は、深度に関わらず、ほとんど一定の割合で生成する傾向を示した。一方、後期白亜紀の層準 (3600 m) のみ **MiBMi / MnBMi** 比が大きい値を示した。**ETIO-III** の加熱実験において、やはり、エチルメチル側鎖はメチル-*n*-ブチル側鎖を良く形成したが、メチル-*iso*-ブチル側鎖もマイナー成分として検出された。また、その **MiBMi / MnBMi** 比は、ほとんど一定の値であった。さらに、**MiBMi / MnBMi** 比が大きい値を示した層準の **D.I.** 値は 0.24 であり、これは熱熟成で **MiBMi** が生成されるレベルを超えていると考えることが出来ることから、メチル-*iso*-ブチルピロール部位を有するバクテリオクロフィルが、この層準に多かった可能性を示唆した。また、上述したように **ETIO-III** の加熱実験よりクロフィルも少量ながらメチル-*iso*-ブチルピロールを形成する可能性が確認されたことから、**MiBMi** だけでは緑色硫黄細菌が過去に存在していたことを示す指標 (Pancost *et al.*, 2002) とすることは難しいであろうことも明らかとなった。

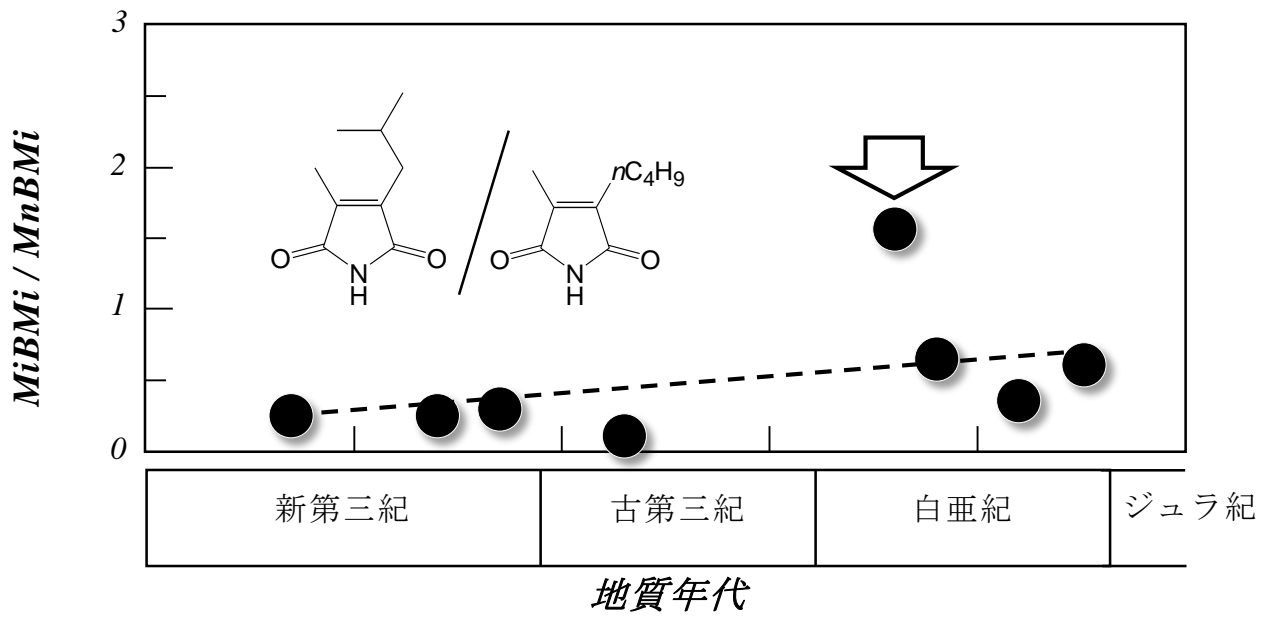


図 V-13. 留萌地域基礎試錐堆積岩中の  $MiBMi / MnBMi$  比の深度分布

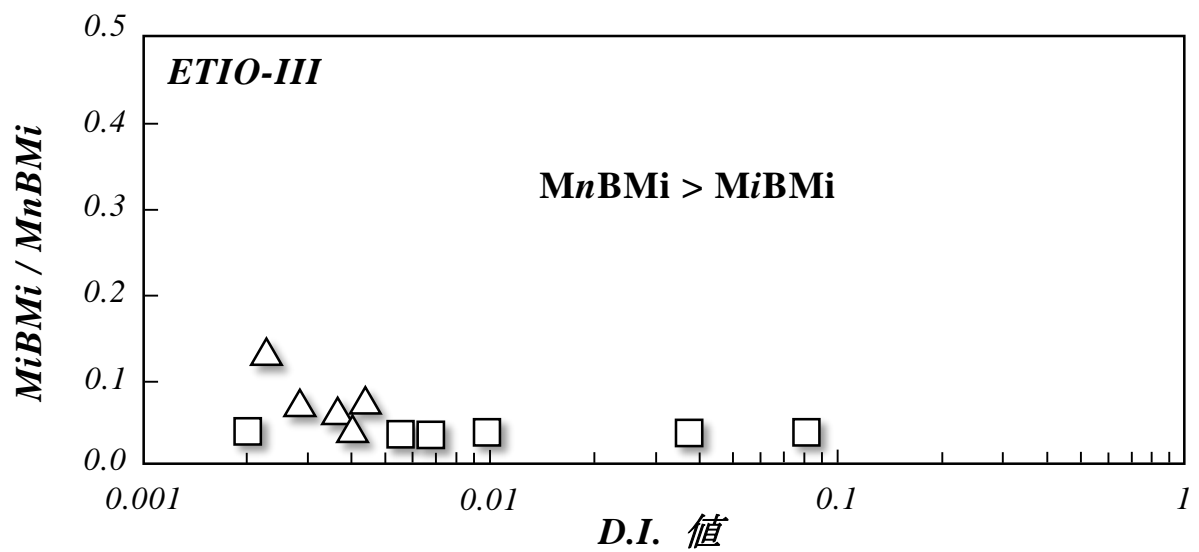


図 V-14. ETIO-III の加熱実験生成物中の  $D.I.$  値に対する  $MiBMi / MnBMi$  比  $\triangle$ : 300°C,  $\square$ : 350°C.

#### V-4. 第 V 章のまとめ

第 V 章では、留萌地域堆積岩中のマレイミド類とフタルイミド類の測定と深度分布の解析、モデルポルフィリン TMTiBP と ETIO-III の加熱実験、加熱実験生成物中のマレイミド類とフタルイミド類の測定と様々な組成比、生成比の解析を行い、それぞれを比較した。その結果、北海道留萌地域の後期白亜紀の層準 (3600 m) において、総フタルイミド類 / 総マレイミド類比, 4-メチルフタルイミド / 3-メチルフタルイミド比は、傾向から正側に外れる特徴を示した。また、メチル-*iso*-ブチルマレイミド / メチル-*n*-ブチルマレイミド比は同層準において他の層準より大きい値を示す特徴が得られた。これらは、加熱実験との比較から、この層準にバクテリオクロロフィルの供給が多かったことを示す特徴となる可能性が示唆された。すなわち、この地域の後期白亜紀において海洋無酸素事変が起こっていたことを裏付ける化学的根拠に基づいた分子的証拠と成り得る。また、上記特徴が認められた堆積物試料は、D.I. 値 0.23 (石油生成帯に相当する熟成度; 第 III 章) を示すため、過剰な熱熟成には起因しないと考えることが出来ることもこの可能性を支持する。この方法は、精製や誘導化などを必要とせず、対象試料から有機溶媒で抽出後、クロム酸酸化し、GC-MS 分析して、標品のそれと比較して求めることができるので、比較的簡便である。

## 第 VI 章

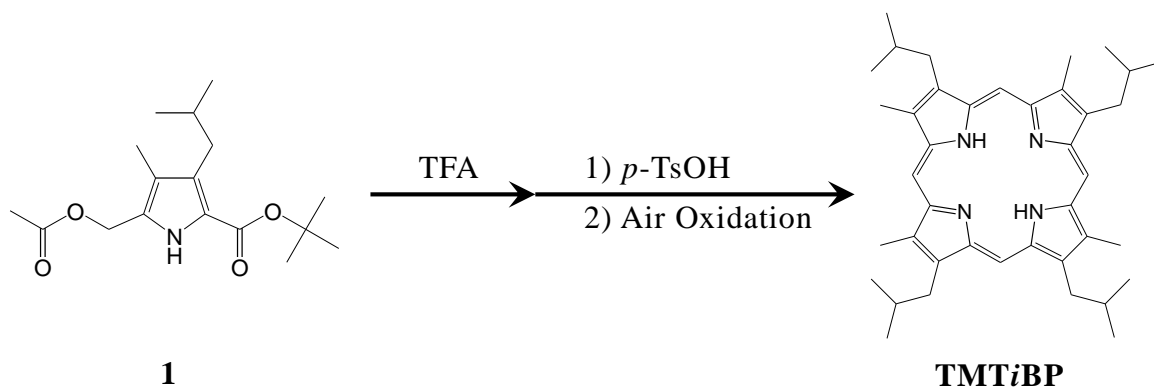
### 実験の部

## 第 VI 章 実験の部

### VI-1. 測定機器

核磁気共鳴スペクトル分光分析は、JEOL 社製 JNM-ECS400 ( $^1\text{H}$ -NMR 400 MHz) 及び Bruker 社製 AVANCE-600 NMR Spectrometer ( $^1\text{H}$ -NMR 600 MHz) を用いて行い、化学シフト値は測定溶媒中のテトラメチルシランを内部標準とした。ガスクロマトグラフ-質量分析計 (GC-MS) は、HEWLETT-PACKARD 社製 G1800AGCD system を使用し、ガスクロマトグラフィーには Agilent Technologies 社製 FFAP FS-WCOT 化学結合型キャピラリーカラム (0.25 mm I.D.  $\times$  60 m, 膜厚 0.25  $\mu\text{m}$ ) を用いた。

### VI-2. モデルポルフィリンの合成



**TMTiBP** は、Knorr and Lange (1902) 及び, Jackson *et al.* (1985) に基づいて、合成したピロール **1** (200 mg, 0.68 mmol) を Asahina *et al.* (2012) の手法を基に TFA (3.6 mL) を加えて遮光し、窒素雰囲気下で 10 分間攪拌した。TFA を減圧濃縮した後、*p*-トルエンスルホン酸 (13 mg, 0.08 mmol), 氷酢酸 (5.5 mL) を加え、窒素雰囲気下、室温で 12 時間攪拌して、さらに空気中で 12 時間攪拌することによって空気酸化した。得られた反応溶液は、減圧濃縮後、クロロホルムを加え、水、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液で洗浄した。洗浄した有機相は、無水硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧濃縮した。得られた粗成生物は、アルミナカラムクロマトグラフィー [ $\text{Al}_2\text{O}_3$ ,  $\text{CH}_3\text{Cl}$ ] を用いて精製し、さらに、*n*-ヘキサンから再結晶したところ、**TMTiBP** を深赤結晶として得た (4 mg, 3 %)。

3,8,13,18-tetra-*isobutyl*-2,7,12,17-tetra-methylporphyrin (TMTiBP)

<sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ in ppm) -2.7 (*br s*, 2H, =**NH**), 1.28-1.31 (*dd*, 24H, J = 3.4 Hz, 6.2 Hz, ≡CCH<sub>2</sub>CHC**H<sub>3</sub>CH<sub>3</sub>**), 2.73 (*m*, 4H, ≡CCH<sub>2</sub>C**H**CH<sub>3</sub>CH<sub>3</sub>), 3.63 (*s*, 12H, ≡C**CH<sub>3</sub>**), 3.96 (*d*, 8H, J = 3.6 Hz, ≡C**CH<sub>2</sub>**CHCH<sub>3</sub>CH<sub>3</sub>), 10.7 (*s*, 4H, =C**H-**)

### VI-3. 堆積岩の分析

各堆積岩試料の粉末 (約 5 g) を遠沈管に取り、ベンゼン : メタノール (4 : 1 v/v) 10 mL を加え、10 分間超音波洗浄を行い、5 分間遠心分離後、上澄みを取り除く操作を 5 回行った。最後にベンゼン 10 mL を加え、10 分間超音波洗浄して、5 分間遠心分離後上澄みを取り除き、洗浄した試料を凍結乾燥した。この乾燥試料に、25 % 硫酸水溶液 (v/v) 5 mL と 10 % クロム酸水溶液 (w/v) 5 mL を加え、0℃ で 2 時間攪拌後、さらに室温で 2 時間攪拌を行った。この反応溶液をベンゼン 10 mL で 5 回抽出し、有機相を無水硫酸マグネシウムで乾燥後、特に精製などすることなく、窒素気流下で 100 μL まで濃縮した (Yota and Nomoto, 2014a, b)。

分析は、GC-MS を用いて、濃縮溶液のうち 1 μL をスプリットレスタイプの導入口に注入した。オーブンの昇温条件は、50℃で 2 分間保持した後、50℃から 180℃まで毎分 10℃で昇温し、また、180℃から 230℃ まで毎分 3℃ で昇温し、230℃ で 50 分間保持した (Shimoyama et al., 2001; Nomoto and Kigoshi, 2005)。

### VI-4. 加熱実験

各モデルポルフィリン (約 0.5 mg) をガラスチューブ中に入れ、脱気・封管した後、電気炉で加熱 (300 ~ 450℃, 1 ~ 72 時間) した。加熱後は室温まで放冷して、堆積岩の分析と同じ手法でクロム酸酸化後ベンゼン抽出し、有機相を乾燥後、特に精製などすることなく、窒素気流下で 100 μL まで濃縮した。

分析も堆積岩の分析同様に、濃縮溶液のうち 1 μL をスプリットレスタイプの導入口に注入し、同じ昇温条件で測定した。

## 引用文献

- Alexander, R., Kagi, R. and Sheppard, P. (1984) 1,8-Dimethylnaphthalene as an indicator of petroleum maturity. *Nature*. **308**, 442-443.
- Alvarez, L. W., Alvarez, W., Asaro, F. and Michel, H. V. (1980) Extraterrestrial cause for the Cretaceous-Tertiary extinction: experimental results and theoretical interpretation. *Science*. **208**, 1095-1108.
- Ando, T., Fujimoto, Y. and Kumasaki, M. (2002) 2. 化学プロセスにおける反応暴走危険性の評価手法について. *Specific Research Reports of the National Institute of Industrial Safety*. NIIS-SRR-No. **27**, 5-10.
- 朝比奈健太・熊谷現・野本信也 (2010) 地層ベンゾポルフィリンの起源と地球化学的意義. *Chikyukagaku (Geochemistry)*. **44**, 221-232.
- 朝比奈健太・小川洋平・浅野純也・熊谷現・野本信也 (2011) ビニルポルフィリンの加熱実験による地層ポルフィリン側鎖アルキル基の伸張機構の解明. *Researches in Organic Geochemistry*. **27**, 129-142.
- 朝比奈健太・野本信也 (2012) バクテリオクロフィルを起源とするベンゾポルフィリンの生成の検証. *Researches in Organic Geochemistry*. **28**, 19-22.
- Baker, E. W., Yen, T. F., Dickie, J. P., Rhodes, R. E. and Clark, L. (1967) Mass spectroscopy of porphyrins. II. Characterization of porphyrins. *Journal of the American Chemical Society*. **89**, 3631-3639.
- Baker, E. W. (1966) Mass Spectrometric Characterization of Petroporphyrins. *Journal of the American Chemical Society*. **88**, 2311-2315.
- Barwise, A. J. G. and Whitehead, E. V. (1980) Separation and structure of petroporphyrins. *Physics and Chemistry of the Earth*. **12**, 181-192.
- Blum, W. (1989) *Direct Analysis of Free Base Geoporphyrins and Metal Geoporphyrin Complexes by High Temperature Glass Capillary Gas Chromatography and Capillary Supercritical Fluid*. University of Bristol, Bristol.
- Chames, P., Fieschi, J., Baty, D., Huseby, B. and Ocampo, R. (1997) Evidence for porphyrins bound, via ester bounds, to the Messel oil shale kerogen by selective chemical degradation experiments. *Geochimica et Cosmochimica Acta*. **61**, 3951-3955.



- Chikaraishi, Y., Matsumoto, K., Kitazato, H. and Ohkouchi, N. (2007) Sources and transformation processes of pheopigments: Stable carbon and hydrogen isotopic evidence from Lake Haruna, Japan. *Organic Geochemistry*. **38**, 985-1001.
- Clezy, P. S., Fookes, C. J. R. and Mirza, A. H. (1977) The chemistry of pyrrolic compounds. XXXVII. Monobenzoporphyrins: The rhodoporphyrin of petroleum deposits. *Australian Journal of Chemistry*. **30**, 1337-1347.
- Ellsworth, R. K. and Aronoff, S. (1968) Investigations on Biogenesis of Chlorophyll *a*: 1. Purification and Mass Spectra of Maleimides from the Oxidation of Chlorophyll and Related Compounds. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. **124**, 358-364.
- Furlong, T. E. and Carpenter, R. (1988) Pigment preservation and remineralization in oxic coastal marine sediments. *Geochimica et Cosmochimica Acta*. **52**, 87-99.
- Hagiwara, M., Nomoto, S. and Shimoyama, A. (2000) Experimental simulation of thermal alteration of naphthalenes in sediments based on isomerization of methyl- and dimethylnaphthalenes. *Researches in Organic Geochemistry*. **15**, 43-50.
- Harland, W. B., Armstrong, R. L., Cox, A. V., Craig, L. E., Smith, A. G. and Smith, D. G. (1990) *A geologic time scale 1989*. Cambridge Univ. Press, Cambridge. pp. 263.
- Hendry, G. A. F., Houghton, J. D. and Brown, S. B. (1987) THE DEGRADATION OF CHLOROPHYLL - A BIOLOGICAL ENIGMA. *New Phytologist*. **107**, 255-302.
- 平野弘道 (2006) 絶滅とは. 平野弘道 著, 絶滅古生物学, 岩波書店, 東京, pp. 1-30.
- 平井明夫 (1979) ビトリナイト反射率. *Journal of the Japanese Association for Petroleum Technology*. **44**, 18-23.
- Hood, A. and Castaño, D. M. (1974) Organic metamorphism: Its relationship to petroleum generation and application to studies of authigenic minerals. *United Nations ESCAP, CCOP Technical Bulletin*. **8**, 85-118.
- Hood, A., Gutjahr, C. C. M. and Heacock, R. L. (1975) Organic metamorphism and the generation of petroleum. *American Association of Petroleum Geologists Bulletin*. **59**, 986-996.
- Hunt, J. M. (1995) *Petroleum Geochemistry and Geology 2nd edition*. W. H. Freeman and Company, New York, p. 743.

- Huseby, B., Ocampo, R., Bauder, C., Callot, H. J., Rist, K. and Barth, T. (1996) Study of the porphyrins released from the Messel oil shale kerogen by hydrous pyrolysis experiments. *Organic Geochemistry*. **24**, 691-703.
- 石浜佐栄子 (2007) ジュラ紀後期の海洋無酸素事変の研究に関する進展と動向. *Bulletin of The Kanagawa Prefectural Museum Natural Science*. **36**, 1-16.
- Jackson, A. H., Pandey, R. K., Rao, K. R. N. and Roberts, E. (1985) Reactions on slid suppotts part II: a conbenient method for synthesis of pyrromethanes using a montmorillonite clay as catalyst. *Tetrahedron Letters*. **26**, 793-796.
- Jablonski, D. (1994) Extinction in the fossil record. *Philosophical Transactions of the Royal Society*. **B344**, 11-17.
- Jenkyns, H. C. (1991) Impact of Cretaceous sea level rise and anoxic events on the Mesozoic carbonate platform of Yugoslavia. *Bulletin of the American Association of Petroleum Geologists*. **75**, 1007-1017.
- Kauer, S., Chicarelli, M. I. and Maxwell, R. (1986) Naturally occurring benzoporphyrins: bacterial marker pigments? *Journal of the American Chemical Society*. **108**, 1347-1348.
- Keely, B. J., Prowse, W. G. and Maxwell, J. R. (1990) The Treibs Hypothesis: An Evaluation Based on Structural Studies. *Energy and Fuels*. **4**, 628-634.
- Knorr, L. and Lange, H. (1902) Ueber die Bildung von Pyrrolderivaten aus Isonitrosoketonen. *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*. **35**, 2998-3008.
- Kozono, M., Nomoto, S., Mita, H., Ishiwatari, R. and Shimoyama, A. (2002) 2-Ethyl-3-methylmaleimide in Tokyo bay sediments providing the first evidence for its formation from chlorophylls in the present photic and oxygenic zone. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. **66**, 1844-1847.
- 工藤修治 (1979) 日本における石油地化学の現状. *Journal of the Japanese Association for Petroleum Technology*. **44**, 53-61.
- 日本光合成研究会 編. (2003) 光合成事典. 学会出版センター, 東京.
- 日本地球化学会 監. (2004) 地球化学講座 4 有機地球化学. 石渡良志・山本正伸 (共編). 培風館, 東京, pp. 13-14.

- Larson, R. L., Fisher, A. G., Erba, E. and Premoli Silva, L. (1993) *Apticore-Albicore : A workshop report on global events and rhythms of the mid-cretaceous, 4-9 October 1992*, Perugia, Italy. pp. 56
- Martin, J., Quirke, E., Shaw, J. G., Soper, D. P. and Maxwell. (1980) PETROPORPHYRINS-II<sup>1</sup>: THE PRESENCE OF PORPHYRINS WITH EXTENDED ALKYL SUBSTITUENTS. *Tetrahedron*. **36**, 3261-3267.
- Matile, P., Hortensteiner, S., Thomas, H. and Krautler, B. (1996) Chlorophyll Breakdown in Senescent Leaves. *Plant Physiology*. **112**, 1403-1409.
- 三次徳二・平野弘道 (1997) 北海道下部蝦夷層群の放散虫化石層序 -特に前期白亜紀海洋無酸素事変の時代に着目して-. *大阪微化石研究会誌, 特別号*, **10**, 237-244.
- Nomoto, S., Araki, S. and Mita, H. (2014) The First Detection of Phthalimides in Sediments as Novel Biomarkers for Photosynthetic Organisms. *Chemistry Letters*. **43**, 1800-1802.
- Nomoto, S., Satou, M., Yoshida, T., Mita, H., Kumagai, G., Nomoto, K., Kigoshi, H. and Kashiyaama, Y. (2010) The First Experimental Demonstration of Side Chain Extension of Geo porphyrins in Sediments. *Chemistry Letters*. **30**, 1174-1175.
- Nomoto, S., Satou, M., Yoshida, T., Mita, H., Kumagai, G., Nomoto, K., Kigoshi, H. and Kashiyaama, Y. (2008) The First Experimental Demonstration of Benzoporphyrin Formation from Sedimentary Porphyrins. *Chemistry Letters*. **37**, 490-491.
- Nomoto, S., Kozono, M., Mita, H. and Shimoyama, A. (2001a) Structural Elucidation of an Oxidation Product of Sedimentary Porphyrins by One-Pot Synthesis of 3-Methylphthalimide. *Bulletin of the Chemical Society of Japan*. **74**, 1975-1976.
- Nomoto, S., Kozono, M., Mita, H. and Shimoyama, A. (2001b) A New Maturity Indicator of Sedimentary Organic Matter Based on Thermal Fission of Allylic Bound in Porphyrins. *Chemistry Letters*. **30**, 1174-1175.

- Nomoto, S., Hagiwara, M., Nakano, Y. and Shimoyama, A. (2000) A New Parameter for Maturity Determination of Organic Matter in Sediments Based on the Clay-Catalyzed Thermal Isomerization of Monomethylphenanthrenes. *Bulletin of the Chemical Society of Japan*. **73**, 1437-1443.
- 野本信也・小園正樹・川添菜津子・三田肇・木越英夫 (2003) 現世および先カンブリア代ストロマトライトの酸化抽出で得たマレイミド類とフタルイミド類. *日本地球化学会年会講演要旨集*. **50**, 32.
- 野本信也・木越英夫 (2005) 現世および新第三系堆積物中の遊離態並びに結合態マレイミド類の GC/MS による解析. *Researches in Organic Geochemistry*. **20**, 31-38.
- 大河内直彦・黒田潤一郎 (2010) 海洋無酸素事変 -地球のダイナミックな営みを探る-. *科学*. **80**, 1117-1123.
- 大河内直彦・柏山裕一郎 (2009) クロロフィルの分子化石ポルフィリンの地球科学. *光合成研究*. **19**, 141-153.
- Pancost, R. D., Crawford, N. and Maxwell, J. R. (2002) Molecular evidence for basin-scale photic zone euxinia in the Permian Zechstein Sea. *Chemical Geology*. **188**, 217-227.
- Patterson, C. and Smith, A. B. (1987) Is the periodicity of extinctions a taxonomic artefact? *Nature*. **330**, 248-251.
- Peter, D. W. (2007) 地球温暖化が招いた大絶滅. 平野弘道 (訳) *日経サイエンス 2007 年 1 月号*. 日経サイエンス社, 東京, pp. 58-67.
- Rampino, M. R. and Stothers, R. B. (1988) Flood basalt volcanism during the past 250 million years. *Science*. **241**, 663-667.
- Raup, D. M. and Sepkoski, J. J. Jr. (1982) Mass extinction in the marine fossil record. *Science*. **215**, 1501-1503.
- Schaeffer, P., Ocampo, R., Callot, H. J. and Albrecht, P. (1993) Extraction of bound porphyrins from sulphur-rich sediments and their use for reconstruction of palaeoenvironments. *Nature*. **364**, 133-136.
- 石油公団資源開発株式会社技術研究所 (1986) 基礎試錐「留萌」. *地化学分析調査報告書*.

- 石油公団資源開発株式会社技術研究所 (1991) 基礎試錐「相馬沖」. *地化学分析調査報告書*.
- 下山 晃・松葉谷治 (1983) 新庄盆地第三系の堆積岩有機物の安定炭素同位体比. *堆積岩の続成作用に関する研究 (昭和 57 年度科学研究費補助金 (総合研究 A) 研究成果報告書)*. pp. 57-63.
- Shimoyama, A., Nakano, Y. and Nomoto, S. (1994) A New Parameter for Maturity Assessment of Organic Materials in Sediments Based on Thermal Isomerization of Monomethylphenanthrenes. *Chemistry Letters*. **23**, 1917-1920.
- Shimoyama, A., Hagiwara, M. and Nomoto, S. (2000) Naphthalenes in Neogene sediments of the Shinjo basin, Japan. *Geochemical Journal*. **34**, 333-340.
- Shimoyama, A., Kozono, M., Mita, H. and Nomoto, S. (2001) Detection of maleimides and their characteristics in Neogene sediments of the Shinjo basin, Japan. *Geochemical Journal*. **35**, 225-236.
- Sundararaman, P., Biggs, R. W., Reynolds, G. J. and Fetzer, C. J. (1988) Vanadylporphyrins, indicators of kerogen breakdown and generation of petroleum. *Geochimica et Cosmochimica Acta*. **52**, 2337-2341.
- Taguchi, K., Shimoda, S., Ichihara, Y., Imoto, N., Ishiwatari, R., Shimoyama, A., Akiyama, M. and Suzuki, N. (1986) Relationship of organic and inorganic diagenesis of Neogene Tertiary rocks, Northeastern Japan. In Gautier, D. L., ed., Roles of organic matter in sediment diagenesis. *The Society of Economic Paleontologists and Mineralogists, special publication*. **38**, 47-64.
- 田中 歩 (2002) クロロフィルの進化. 堀 輝三・大野正夫・堀口健雄編 「21 世紀初頭の藻学の現状」, 日本藻類学会, 山形, pp. 9-11.
- Teichmüller, M. (1971) Anwendung Kohlenpetrographischer Methoden bei der Erdöl- und Erdgasprospektion. *Erdöl und Kohle, Erdgas, Petrochemie Vereinigt mit Brennstoff-Chemie*. **24**, 69-76.
- 帝国石油株式会社 (1988) 基礎試錐「仁賀保」. *石油根源岩分析総合報告書*.
- Treibs, A. (1934) Chlorophyll- und Häminderivate in bituminösen Gesteinen, Erdölen, Erdwachsen und Asphalten. Ein Beitrag zur Entstehung des Erdöls. *Justus Liebigs Annalen der Chemie*. **510**, 42-62.

- Treibs, A. (1936) Chlorophyll- und Hämin-derivate in organischen Mineralstoffen. *Angewandte Chemie*. **49**, 682-686.
- 上原 赫 監修. (2006) 光合成微生物の機能と応用. シーエムシー出版, 東京.
- Vassoyevich, N. B., Korchagina, Yu. I., Lopatin, N. V. and Chernyshev, V. V. (1970) Principal phase of oil formation. *Vestnik Moskov University*. **6**, 3-27. (in Russian); English translation: *International Geological Review*. **12**, 1276-1296.
- 養田太一・野本信也 (2014a) 結合態フタルイミド/マレイミド比を用いる堆積物中の有機物の新しい熱熟成度指標. *Researches in Organic Geochemistry*. **30**, 1-8.
- 養田太一・野本信也 (2014b) 地層ポルフィリンの脱メチル化指標を用いた熱熟成度指標の評価. *Researches in Organic Geochemistry*. **30**, 23-27.

## 謝辞

本博士（環境学）学位論文は、筑波大学大学院生命環境科学研究科持続環境学専攻（博士後期課程）有機地球環境化学研究室在籍中の研究結果をまとめたものである。

筑波大学大学院数理物質科学研究科化学専攻 野本信也教授には、指導教員として、本研究を実施する機会を与えて頂き、その遂行にあたり辛抱強く御指導頂きました。私は博士後期課程からの配属でありましたが、その際も温かく迎えて頂き、学会発表・投稿論文の執筆の機会も与えて頂きました。特に、研究における安全衛生の御指導は今後の研究人生において非常に重要な知見として身に着けることができました。ここに甚謝の意を表します。生命環境科学研究科持続環境学専攻 濱健夫教授，廣田充准教授，並びに，数理物質科学研究科化学専攻 末木啓介教授には、予備審査委員としてご助言を頂くとともに，本論文の細部にわたりご指導を戴きました。ここに深謝の意を表します。

投稿論文の執筆における関係者の皆様には，査読を通して貴重なご助言を戴きました。記して感謝致します。

本研究における堆積岩の分析試料は，独立行政法人石油天然ガス・金属鉱物資源機構に北海道留萌地域の昭和 61 基礎試錐の 8 試料，福島県相馬沖地域の平成 2 年基礎試錐の 6 試料，秋田県仁賀保地域の昭和 63 年基礎試錐の 6 試料とそれぞれのデータを提供して頂きました。ここに同機構に対して謝意を表します。

有機地球環境化学研究室では，良き研究仲間と出会い，共に悩み考え，最高学年として微力ながら助言などをさせて頂く機会を与えて頂いたことは，貴重な経験値となり，そんな研究室で日々を送れたことを光栄に思います。同研究室の店じまいまで残りわずかとなりましたが，さらなる飛躍と発展を心よりお祈りいたします。研究者としてようやくスタートラインに立てた私も，今後甘んじることなく日々精進していく所存であります。

最後に，長きにわたった私の学生生活を辛抱強く支援して頂きましたすべての皆様に，ここに深謝の意を表します。

養田 太一