

黒島海丘におけるバクテリアマットの有機地球化学的研究

荻原 成騎^{*1} 松本 良^{*1} ロバート・ジェンキンス^{*1} 町山 栄章^{*2}

「ドルフィン3K」第506潜行および「しんかい2000」第1363潜行において黒島海丘の6地点から採取した泥質堆積物およびメタン湧出に関係して生息しているバクテリアマットについて有機地球化学分析を行い、バイオマーカーによる特徴付けを試みた。抽出性炭化水素画分については、ドルフィン3Kにて採取した試料から以下の特徴的なバイオマーカーが検出された。(1) 偶数優位性を持つ *n*-alkane (2) 奇数炭素数の 3,7-dimethylalkane (3) 偶数炭素数の alkylcyclopentane (4) 個別炭素同位体組成は, phytane を除いて -25‰ から -27‰ の狭い範囲に入る。これに対して, 極性成分の HI/LiAlH₄ 処理後のエーテル結合性炭化水素画分は, 軽い炭素同位体組成を持つ phytane で特徴付けられる。この phytane は phytyl diethers に由来し, メタン細菌の存在を示唆している。

キーワード: 黒島海丘, 炭素同位体, バイオマーカー, バクテリアマット, メタン細菌

Organic geochemical study of bacterial mats collected from Kuroshima Knoll

Shigenori OGIHARA^{*3} Ryo MATSUMOTO^{*3} Robert JENKINS^{*3} Hideaki MACHIYAMA^{*4}

Linked to methane seeps on Kuroshima Knoll, bacterial mats form as the result of the presence and metabolic activity of distinctive methane related biota. Samples collected by dolphin 3K were contain free, even carbon numbered *n*-alkanes, odd carbon numbered 3,7-dimethylalkanes, and even carbon numbered alkylcyclopentanes. Stable carbon isotope analyses of all these lipids except phytane reveal in the range -25‰ to -27‰ of $\delta^{13}\text{C}$. Hydrocarbon fraction after HI/LiAlH₄ treatment of the polar fraction from bacterial mats contains ¹³C depleted phytane, which is the ether cleavage product of phytyl diethers. This suggest that the possibility of the existence of methanogenic archea in the bacterial mats on Kuroshima Knoll.

Keywords : biomarker, bacteria mats, carbon isotope, Kuroshima Knoll, methanogen,

* 1 東京大学大学院理学系研究科

* 2 海洋科学技術センター

* 3 Department of Earth & Planetary Science, The University of Tokyo

* 4 Japan Marine Science and Technology Center

1. 緒言

メタンは二酸化炭素と比べて温室効果ガスとして強い効果を持つ物質であり、地球規模の環境変動に強い影響力を持つ。そのためメタンの生産と消費は過去の気候変動の評価、将来の予想において重要なファクターとなっている。海洋堆積物中のメタン酸化細菌の活動は、表層環境における主要なメタン消費として認識されている(Hoehler et al., 1994)。海洋堆積物中のメタンの生成と酸化分解に関与する微生物の関与をバイオマーカー(biomarker: 生物指標有機物)を用いて特定することは、メタンの起源を検討する上で重要な情報となる。

これまでのバイオマーカーを用いたメタン湧出孔周囲における堆積物の研究は、メタン酸化によって生じる炭酸塩沈澱中のバイオマーカーに関する研究が多い。これらの研究の結果、冷湧水/メタン湧出孔付近に生息するメタン酸化細菌は、主に-100%以下の軽い炭素同位体組成を持つcrocetane (2,6,11,15-tetramethylhexadecane)とPME (2,6,10,15,19-pentamethylcosane)によって特徴付けられる(Theil et al., 1999; Peckman et al., 1999など)。また、メタン酸化細菌は反対の反応を行う硫酸還元菌や他のバクテリアと湧出孔付近で共存しているが、堆積物は非常に不均質であり、間隙水、溶存ガス組成および生物集団は変化に富むため、その分布/組み合わせは多様であることが指摘されている(Hoeler et al., 1994)。PMEと同じく2,6,15,19-tetramethylcosaneはメタン生成細菌を特徴付けるバイオマーカーとして認定されており、堆積物中でのこれらの化合物の存在はメタン生成細菌と無酸素環境を特徴付けている(Schouten et al., 1997; Vink et al., 1998)。

本研究では、黒島海丘の6地点から採取したメタン湧出に関係して生息していると考えられるバクテリアマットおよび泥質堆積物について有機地球化学分析を行い、バイオマーカーによる特徴付けを行った。これまでの研究では良好なバクテリアマットについて有機分析を行った場合でも、バクテリア起源と考えられるバイオマーカーがほとんど検出されなかった事例がみられた。そのため本研究では、極性成分をHI/LiAlH₄処理することによってグリセロールのエーテル結合を切断し、形成された炭化水素について分析比較した。

2. 試料

本研究に用いたバクテリアマットは2001年5月1日「ドルフィン3K」による潜航調査(第506潜行)で採取された試料を用いた。本潜航は「しんかい2000」による潜航調査(第1263~1266潜行)の事前調査として行われたドルフィン-3Kの5潜航(第505~509潜行)のうちの1潜航である。これらの潜航については、町山ら(2001)が詳しい。ドルフィン3K第506潜行は黒島海丘頂部を西から東へ横断する側線に沿って行われた。着底地付近には黒色の砂礫状ノジュールが広がっており、東へ進むと深度約630m付近でマンガンコーティングされた倒壊したチムニーが多数見られた。さらに東進するとシロウリガイ死貝のコロニーが出現した。コロニー周囲におけるバクテリアマットの分布が見られる部分において、プッシュ

コアを用いて堆積物を採取した(C-1)。プッシュコアは、長さ約30cm、直径約5cmのアクリル製である。さらに東方には深さ7m程度の窪地のほか、倒壊したチムニーや立っているチムニーが見られた。また深度647m付近でシロウリガイの破片の群集と共に白色のバクテリアマットが見られた。この地点についてもバクテリアマット上でプッシュコアによる試料採取を行った(C-2)。バクテリアマットの表面は白色であるが、堆積物中は黒色であった。

2002年6月13日「しんかい2000」第1363潜行では、黒島海丘の北東部から西へ向かって横断する形で調査が行われた。しんかい2000C1コアは、特異点17の西方の海底で泥質試料を採取した。次に100m西方に分布する大きなチムニー、ワームチューブの脇で柱状採泥を行い、約20cmのC2コアを採取した。さらに西方に移動し、特異点18近傍のシロウリガイコロニーの脇に発達する白~青色のバクテリアマットについて、試料採取を行った。マットの大きさは1m×2m程度であった。C3コアはバクテリアマットを採取することを目的として、マットの中で繰り返し採泥筒をプッシュし約25cmのコアを採取した。C4コアは深度プロファイルを調べるために採泥筒を一度だけ突き刺して採取し、約18cmの柱状試料を採取した。すなわち、C3、C4は典型的バクテリアマットであるのに対して、C1、C2は泥質堆積物である。

以上6本の柱状試料について分析を行った。Fig.4に各コア試料採取地点の写真を示す。

3. 分析方法

採取した試料は船上で速やかに凍結し、実験室に持ち帰った後に凍結乾燥を行った。正確に測り取った試料2gを遠沈管に移し、溶媒(DCM:MeOH/93:7) 30mlに浸し、bitumenの超音波抽出を行った。抽出溶媒は、遠心分離の後ナス型フラスコに移した。抽出操作は、3回繰り返した。抽出溶媒はロータリーエバポレーターを用いて乾固した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーによって、N-1(extractable hydrocarbons; 抽出性炭化水素)、N-2(PAH; 多環芳香族炭化水素画分)、N-3(極性成分)に分画した。極性成分については、HI(55%) 100°C 24時間処理によってヨウ素化した後にLiAlH₄ 70°C 2時間処理によって還元し、炭化水素を抽出した。これからシリカゲルカラムクロマトグラフィーによって、P-1(ether cleavage products; エーテル結合性炭化水素)を精製した。

本研究では、N-1画分(抽出性炭化水素)とP-1画分(エーテル結合性炭化水素)について、GC/MS分析を行った。使用したGCはTermoQuest社製GC8000Top、MSは同社製Voyagerである。注入口はオンカラムインジェクター、カラムは溶融石英キャピラリーカラム(HP-5, 25m×0.25mm I.D., 膜厚0.25 μm)を使用した。オープン温度は40°Cで1分間保持し、10°C/分で175°Cまで、6°C/分で225°Cまで、更に4°C/分で300°Cまで上昇させた後、20分間保持した。インターフェイスの温度は280°Cである。それぞれの画分から検出された化合物について、GC/C/MSを用いて個別炭素同位体分析を行った。用いたGCは、HP-6800、同位体質量分析計は、FinniganMat delta-plusである。GCの使用条件につい

では、試料導入にスプリットレス法を用いた以外は、GC/MS 分析と同条件である。

4. 結果

Figure 1に黒島海丘で採取した泥質堆積物およびバクテリアマットN-1画分(抽出性炭化水素)のGC/MS分析の結果を示す。しんかい2000にて採取されたC1, C3, C4の3本のコアからは、少量の*n*-alkaneとPrで示したpristaneがわずかに検出された。C2コアについても、濃度が相対的に高い*n*-

alkaneとPrが認められたが、化合物の組み合わせは他の3本のコアと差はない。しんかい2000で採取された4本のコア試料では*n*-alkaneはC₁₃からC₃₅の範囲で分布し、C₃₁またはC₃₃に頂点を持つ。C₂₅以上では著しい奇数優位性を示すがC₂₄以下では偶数奇数優位性は認められない。

これに対してドルフィン3Kにて採取した2本のコアは全く異なった性質を示す。ここでは図中に*n*で示した*n*-alkaneとCpで示したalkylcyclopentaneが卓越する。*n*-alkaneの分布は、C₁₁からC₃₁の範囲であり、C₁₁からC₂₄まではC₁₆を頂点とし

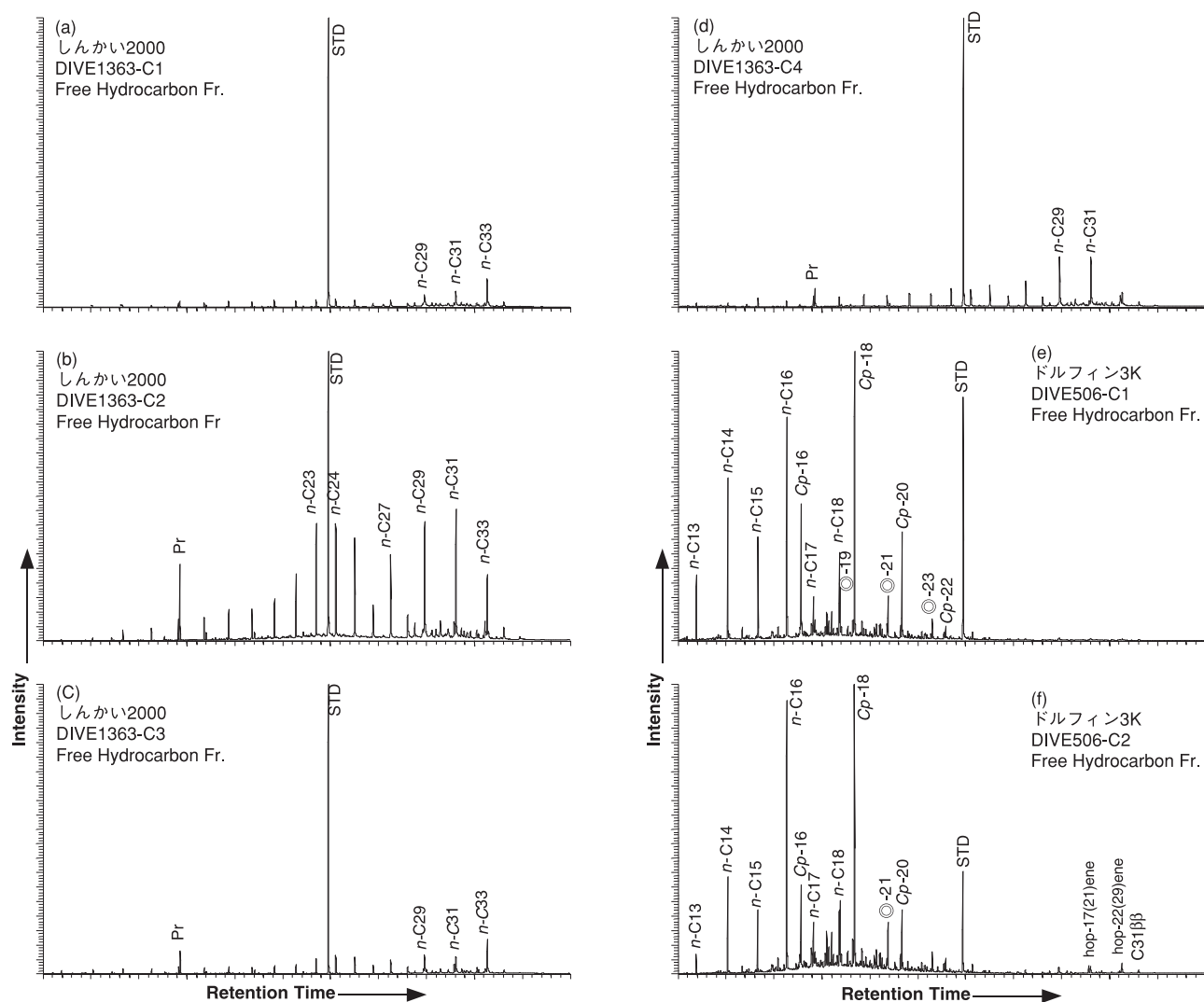


図1 黒島海丘より採取した泥質堆積物およびバクテリアマットから得られた抽出性炭化水素のトータルイオンクロマトグラム(TIC)。(a)しんかい2000第1363潜行C1コア;泥質堆積物, (b) しんかい2000第1363潜行C2コア;泥質堆積物, (c) しんかい2000第1363潜行C3コア;バクテリアマット, (d) しんかい2000第1363潜行C4コア;バクテリアマット, (e)ドルフィン3K第506潜行C1コア;バクテリアマット, (f) ドルフィン3K第506潜行C2コア;バクテリアマット。数字は各化合物の炭素数を示す。Pr=プリスタン, *n*=*n*-アルカン, Cp=アルキルシクロペンタン, ◎=3,7-ジメチルアルカンをそれぞれ示す。

Figure 1 Total Ion Chromatogram (TIC) of extractable hydrocarbon fractions extracted from bacterial mats and muddy sediments on Kuroshima Knoll. (a)Shinkai2000 Dive#1363C1core;muddy sediment, (b) Shinkai2000 Dive#1363C2core; muddy sediment, (c) Shinkai2000 Dive#1363C3core;bacterial mats, (d) Shinkai2000 Dive#1363C4core;bacterial mats, (e)Dolphin3K Dive#506C1core;bacterial mats, (f) Dolphin3K Dive#506C2core;bacterial mats. Number indicates each carbon number of compound. Pr=pristine, *n*=*n*-alkanes, Cp=alkylcyclopentanes, ◎=3,7-dimethylalkanes.

た対象形を呈する。特筆すべきは C_{16} に続いて C_{14} 、 C_{18} が卓越する偶数炭素数優位の分布である。ここで C_{11} から C_{23} までの範囲におけるCPI(Carbon Preference Index)は、0.4と異常に低い値を持っている。Alkylcyclopentaneは C_{14} から C_{24} での範囲で偶数炭素数のみが検出される。 C_{18} で頂点を示す C_{18} -alkylcyclopentaneは、N-1画分中で最も高い濃度を示している。◎で示した3,7-dimethylalkaneは、奇数炭素数が C_{21} を頂点に C_{15} から C_{27} の範囲で分布する。奇数炭素数を持つ3,7-dimethylalkaneは、炭素数が1小さい偶数炭素数 n -alkaneの

直後に湧出する。このため図中では n -alkaneと3,7-dimethylalkaneの分離は明確でない。しかし、炭素数18までは n -alkaneが、19以上では3,7-dimethylalkaneが入れ代わって分布する。また、ドルフィン3KC2においては、hop-17(21)-ene, hop-22(29)-eneおよび C_{31} β β hopaneの3種類のhopanoid炭化水素が検出された。ドルフィン3KC1コアでは、これらのhopanoid炭化水素はC2コアと比べ相対的に少量である。また、ドルフィン3Kの2本のコアは、pristaneやphytaneなどのisoprenoid炭化水素量は、 n -alkaneと比べ少量である。

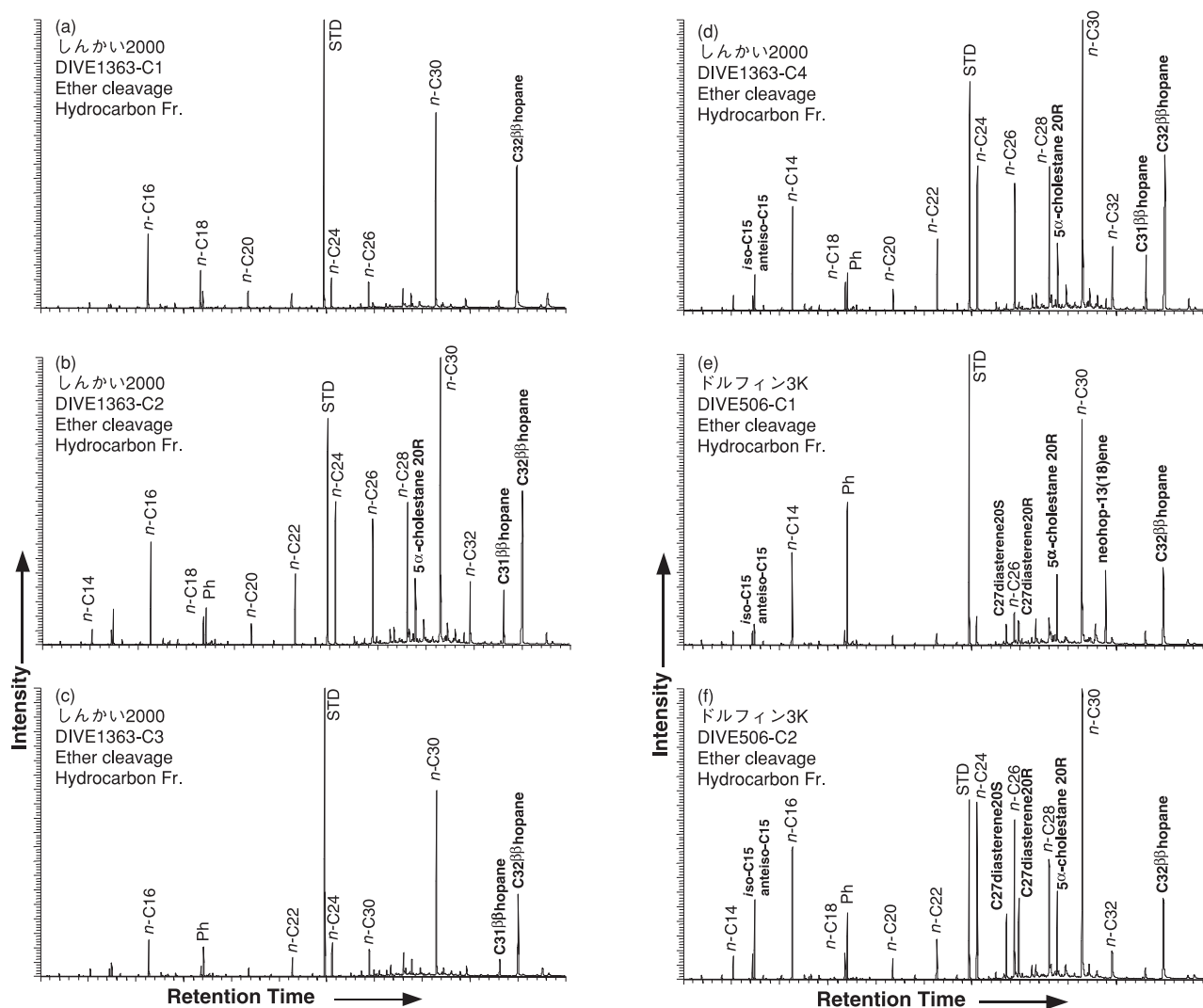


図2 黒島海丘より採取したバクテリアマットおよび泥質堆積物から得られたエーテル結合性炭化水素のトータルイオンクロマトグラム(TIC)。(a) しんかい2000第1363潜行C1コア;泥質堆積物,(b)しんかい2000第1363潜行C2コア;泥質堆積物,(c)しんかい2000第1363潜行C3コア;バクテリアマット,(d)しんかい2000第1363潜行C4コア;バクテリアマット,(e)ドルフィン3K第506潜行C1コア;バクテリアマット,(f)ドルフィン3K第506潜行C2コア;バクテリアマット。Ph=フィタンを示す。

Figure 2 Total Ion Chromatogram (TIC) of ether cleaved hydrocarbons from bacterial mats and muddy sediments on Kuroshima Knoll. (a) Shinkai2000 Dive#1363C1core;muddy sediment, (b) Shinkai2000 Dive#1363C2core; muddy sediment, (c) Shinkai2000 Dive#1363C3core;bacterial mats, (d) Shinkai2000 Dive#1363C4core;bacterial mats, (e) Dolphin3K Dive#506C1core;bacterial mats, (f) Dolphin3K Dive#506C2core;bacterial mats. Number indicates each carbon number of compound. Ph=phytane.

Figure2に各試料の極性成分についてHI/LiAlH₄処理後のP-1画分(エーテル結合性炭化水素)のGC/MS分析の結果を示す。しんかい2000コアC1は今回分析した試料の中で最もシンプルな化合物組み合わせ持つ。*n*-alkaneはC₃₀が卓越し、C₁₆およびC₁₈がこれに続く。ここでは*n*-C₁₈>phytaneである。*n*-C₃₀の次に高い濃度を示したのがC₃₂ββ hopaneである。奇数炭素数*n*-alkane濃度は非常に低い。しんかい2000コアC3についても非常によく似たクロマトを示すが、*n*-C₁₈<phytaneであること、C₃₁ββ hopaneと比較してC₃₂ββ hopaneが低い点が異なる。しんかい2000C2およびC4については*n*-C₃₀以外の偶数炭素数*n*-alkaneが相対的に高い濃度を示し、5α-cholestaneが顕著に認められた。ドルフィン3Kの2本のコアでは、*n*-C₂₆を挟んでC₂₇diasterane20Sおよび20Rが検出され、しんかい2000で採取された4本のコアとは異なる。さらにドルフィン3KC1コアではneohop-13(18)eneがC₃₂ββ hopaneと同濃度で検出され、phytaneの濃度が高い。また、ドルフィン3KC2コアでは、*anteiso*-C₁₅濃度が高く、*anteiso*-

C₁₅>phytaneであり、*n*-C₂₄および*n*-C₂₆がドルフィン3KC1と比べて高い。

Regular isoprenoidであるphytane (C₂₀H₄₂;M+=282) は、"tail to tail" 型のirregular isoprenoidであるcrocetane (C₂₀H₄₂;M+=282) と一般的GCキャピラリーカラムを用いた場合、保持時間が一致する。そのために、両者の識別はマスペクトルによって行った。Fig.3にドルフィン3KC1コアのphytaneと典型的crocetaneのマスペクトル(北海道達布金尻沢石灰岩より抽出)を比較した。Phytaneは*m/z*169<183であるのに対して、左右対称形のcrocetaneは*m/z*169>183で特徴付けられる。本研究ではこの基準に基づいて同定を行った結果、黒島海丘から純粋なcrocetaneは検出されず、*n*-C₁₈の直後に湧出したisoprenoid炭化水素を全てphytaneと同定した。このphytaneについて相対的に少量のcrocetaneとの混合物である可能性は否定できないが、マスペクトルは純水なphytaneに近いので、混合物であったとしてもその寄与は小さい。

Table 1, 2にGC/C/MS分析による個別炭素同位体組成分析の結果を示す。N-1画分(抽出性炭化水素)については、しんかい2000ではC2コアについてのみ分析が可能な濃度が得られた。全てのコア、化合物について炭素同位体組成に大きな変動はなく、大部分が-25‰から-30‰の範囲である。特にalkylcyclopentanesおよび3,7-dimethylalkanesについては、炭素同位体組成は-25.0‰から-26.0‰の狭い範囲に入る。この画分で得られた最も軽い炭素は、ドルフィン3KC1コアのphytaneが示す-32.5‰である。

これに対して、HI/LiAlH₄処理後のP-1画分(エーテル結合性炭化水素)では、化合物ごとに炭素同位体組成が変化する。全試料においてphytaneが全ての化合物の中で最も軽い値を持ち、特にしんかい2000C3コアではphytaneは-90.4‰と著しく軽い値を持つ。各コアについて*n*-alkaneの中では*n*-C₁₄または*n*-C₁₆が最も軽い。*Iso*-C₁₅および*anteiso*-C₁₅については、*n*-alkane全体と比べて軽い炭素を持ち、*anteiso*-C₁₅は同じ炭素数の*n*-C₁₆に近い値を持つ。検出された3種のhopanoid炭化水素は炭素同位体組成のばらつきが大きい。各コアにおいてC₃₂ββ hopane<C₃₁ββ hopaneまたC₃₂ββ hopane<neohop-13(18)eneの傾向が見られる。また、5α-cholestaneについては、それぞれのコアの*n*-alkaneの炭素同位体組成の変化範囲に入る。

5. 考察

全ての試料について、N-1画分(抽出性炭化水素)とP-1画分(エーテル結合性炭化水素)共にメタン酸化細菌の存在を特徴付けるPMEおよびcrocetaneなどのirregular isoprenoidは検出されなかった。これに対して、ドルフィン3KC1C2コアからは、alkylcyclopentanes, 3,7-dimethylalkanesなどのバクテリア起源と考えられるバイオマーカーが見い出された。ただし、これらの化合物は-25‰から-26‰と相対的に重い炭素同位体組成を持つことから、メタン酸化細菌とは直接結びつくバイオマーカーではない。炭素同位体組成から明らかに他の化合物と異なる起源を持つと考えられるのはphytaneで

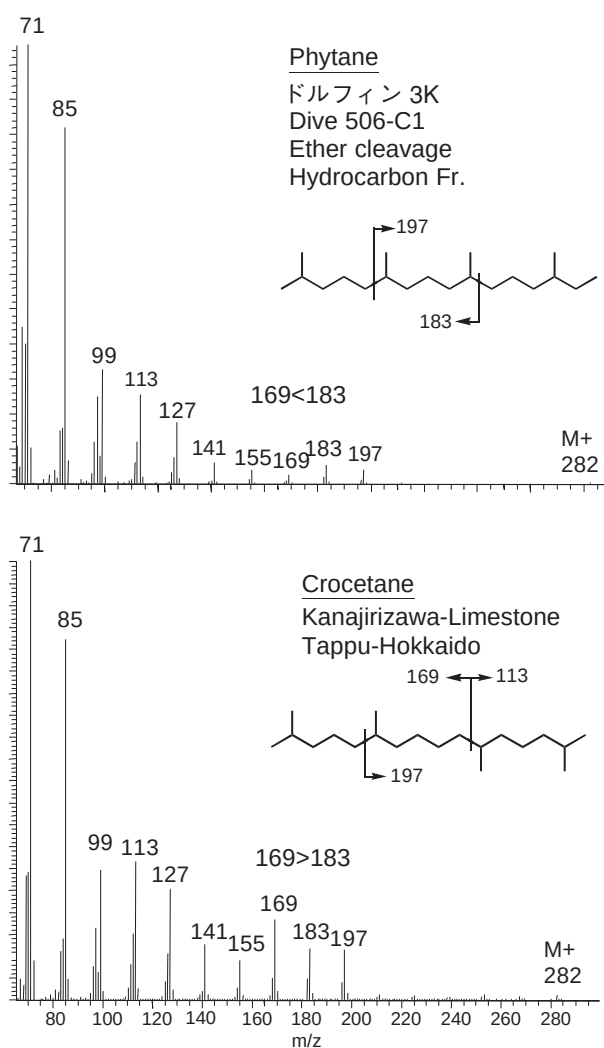


図3 (a)フィタンと(b)クロセタンのマスペクトルの違い。

Figure 3 The difference of mass spectra of (a) phytane and (b) crocetane.

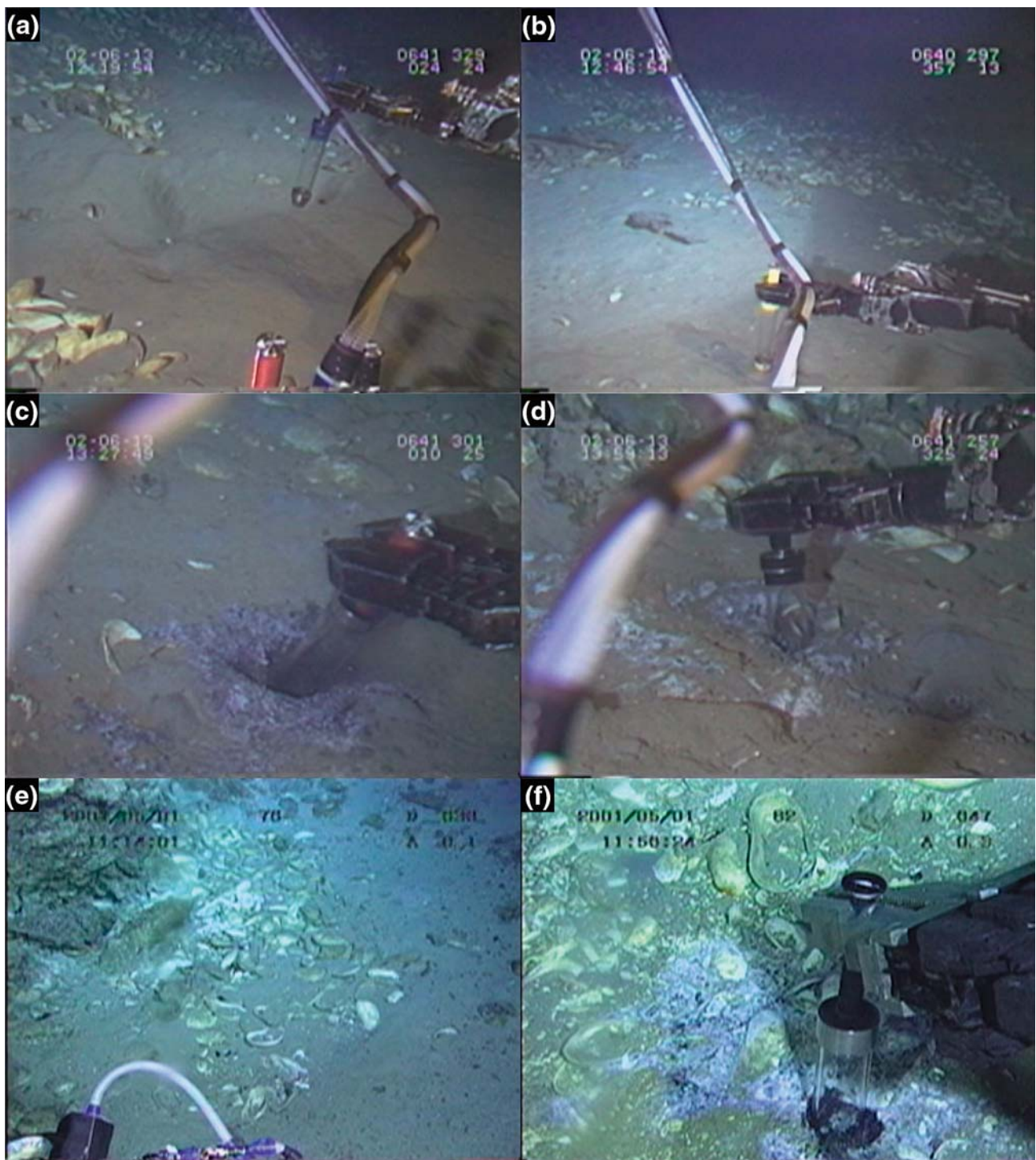


図4 試料採取地点の写真。(a)しんかい2000第1363潜行C1コア, (b)しんかい2000 第1363潜行C2コア, (c)しんかい2000第1363潜行C3コア, (d)しんかい2000 第1363潜行C4コア, (e)ドルフィン3K第506潜行C1コア, (f)ドルフィン3K第506潜行C2コア。

Figure 4 Photographs of the sampling points at Kuroshima Knoll. (a)Shinkai2000Dive #1363C1core, (b)Shinkai2000 Dive #1363C2core, (c)Shinkai2000 Dive #1363C3core, (d)Shinkai2000 Dive #1363C4core, (e)Dolphin3KDive#506C1core, and (f)Dolphin3KDive #506C2core.

ある。黒島海丘のバクテリアマットの特徴はcrocetaneの欠如と軽い炭素同位体組成を持つphytaneの存在である。

これまでの研究例ではcrocetaneの起源生物は明確ではないが、-100%以下の軽い炭素同位体組成から、メタン酸化細菌由来すると考えられている (Summons et al.,1994)。これに対して、一般にphytaneの起源は、chlorophyll由来のC₂₀ phytol, おそらくphytoplankton由来の β -tocopherol, carotenoid (たとえば β -carotane) などが挙げられる。今回の研究ではphytaneは、ether cleavage productsとして検出された。これは極性画分におけるphytyl diethers (おそらくphytyl/hydrophytyl diethers) の存在を示す。このような化合物はEel River Basinの堆積物からも報告されており (Hinrichs et al., 1999), *Methanococcales* や *Methanosarcinales* などのメタン細菌の存在を示している (Koga et al., 1993)。

表1 黒島海丘より採取したバクテリアマットより得られた抽出性炭化水素の個別炭素同位体組成。

Table 1 Carbon isotopic compositions of free hydrocarbons from Kuroshima Knoll bacteria mats.

Kuroshima Bacteria Mats Extractable hydrocarbons $\delta^{13}\text{C}\%$			
	Shinkai 2K	Dolphin 3K	
	C2	C1	C2
<i>n</i> -C12		-26.0	
<i>n</i> -C13		-26.8	
<i>n</i> -C14		-26.6	-26.5
<i>n</i> -C15		-26.4	-26.6
<i>n</i> -C16	-24.0	-26.2	-26.5
<i>n</i> -C17	-26.8	-25.5	-26.4
<i>n</i> -C18	-26.7	-25.4	-25.3
<i>n</i> -C19	-27.4		
<i>n</i> -C20	-27.6		
<i>n</i> -C21	-27.0		
<i>n</i> -C22	-30.2		
<i>n</i> -C23	-27.6		
<i>n</i> -C24	-28.8		
<i>n</i> -C25	-28.9		
<i>n</i> -C26	-29.7		
<i>n</i> -C27	-29.5		
<i>n</i> -C29	-29.3		
<i>n</i> -C30	-31.6		
<i>n</i> -C31	-30.9		
<i>n</i> -C33	-28.1		
<i>n</i> -C35	-29.4		
Pristane			
Phytane		-32.5	
Cp-16 (Cyclopentylundecane)		-25.4	-26.0
Cp-18 (Cyclopentyltridecane)		-25.4	-25.0
Cp-20 (Cyclopentylpentadecane)		-25.5	
Cp-22 (Cyclopentylheptadecane)		-25.4	
◎-19 (3, 7-Dimethylheptadecane)		-25.9	
◎-21 (3, 7-Dimethylnonadecane)		-26.0	-25.7
◎-23 (3, 7-Dimethylheneicosane)		-26.0	

謝辞

本研究を進めるにあたり、岩谷科学技術研究助成 (平成14年度・萩原) を使用した。有機地化学分析には榊原普子氏の御協力を頂いた。記して感謝します。

文献

- 1) 町山栄章・松本 剛・松本 良・服部陸男・岡野眞治・岩瀬良一・戸丸 仁, “しんかい2000黒島海丘潜航調査 (NT-01-05Leg1航海) の概要,” JAMSTEC深海研究, 19, 45-60, (2001)
- 2) Hinrichs, K.-U., Hayes, J.M., Sylva, S.P., Brewer, P.G., DeLong, E.F., "Methane-consuming archaeobacteria in marine sediments," Nature 398, 802-805. (1999)
- 3) Hoehler, T.M., Alperin, M.J., Albert, D.B., Martens, C.S., "Field and laboratory studies of methane oxidation and an anoxic marine sediment: Evidence for methane-sulfate reducer consortium," Global Biogeochem. Cycles, 8, 451-463. (1994)
- 4) Koga, Y., Nishihara, M., Mori, H., Akagawa-Matsushita, M., "Ether polar lipids of methanogenic bacteria: structures, comparative aspects, and biosyntheses," Microbial. Rev., 164-182. (1993)
- 5) Peckman, J., Theil, V., Michaels, W. Clari, P., Gaillard, C., Martire, L. and Reitner, J., "Cold seep deposits of Beauvoisin (Oxfordian; southeastern France) and Marmorito (Miocene; Northern Italy): microbially induced

表2 黒島海丘より採取したバクテリアマットおよび泥質堆積物から得られたエーテル結合性炭化水素の個別炭素同位体組成。

Table 2 Carbon isotopic compositions of ether cleaved hydrocarbons from Kuroshima Knoll bacteria mats and muddy sediments.

Kuroshima Bacteria Mats and muddy sediments. Ether cleavage products (after HI/LIAIH ₄ treatment) $\delta^{13}\text{C}\%$						
	Shinkai 2K				Dolphin 3K	
	C1	C2	C3	C4	C1	C2
<i>n</i> -C14		-40.1	-41.0	-35.6		
<i>n</i> -C16	-44.7	-48.4	-47.7	-40.2	-32.6	-40.3
<i>n</i> -C18		-36.9	-38.8	-32.3	-27.1	-30.6
<i>n</i> -C20		-32.1		-32.4	-27.5	-25.6
<i>n</i> -C22		-31.1	-32.4	-29.7	-26.7	-30.4
<i>n</i> -C24		-29.6	-32.3	-29.7	-27.1	-29.9
<i>n</i> -C26		-30.7	-33.7	-28.5	-26.2	-29.4
<i>n</i> -C28		-30.0	-36.3	-31.0	-28.6	-31.1
<i>n</i> -C30	-31.1	-31.2	-33.2	-31.3	-29.2	-30.9
<i>n</i> -C32		-28.1	-29.7	-29.9	-26.1	-29.6
<i>iso</i> -C15		-36.5	-40.5	-34.0	-28.6	-33.2
<i>anteiso</i> -C15		-46.6	-48.0	-42.9	-30.6	-37.4
Phytane	-63.2	-62.2	-90.4	-64.3	-56.4	-75.2
Neohop-(13)18ene					-25.1	-26.3
C31 β hopane		-27.1	-26.2	-32.1		
C32 β hopane	-33.9	-37.0	-38.0	-39.9	-33.2	-39.8
5- α cholestane		-30.1	-36.6	-30.4	-29.2	-31.7

- authigenic carbonates," Int. Joun. Earth Sci., 88, 60-75. (1999)
- 6) Schouten, S., van der Maarel, M.J., Huber, R., Sinninghe Damste, J.S., "2,6,10,15,19-Pentamethylcosanes in *Methanolobus bombayensis*, a marine methanogenic archaeon, and in *Methanosarcina mazei*", Organic Geochemistry 26, 409-414. (1997)
- 7) Summons, R.E., Jahnke, L.L., Roksandic, Z., "Carbon isotope fractionation in lipids from methanotropic bacteria: relevance for interpretation of geochemical record of biomarkers" Geochim. Cosmochim. Acta, 58, 2853-2863. (1994)
- 8) Theil, V., Peckman, J., Seifert, R., Wehrung, P., Reitner, J. and Michaels, W. "Highly isotopically depleted isoprenoids: Molecular markers for ancient methane venting," Geochim. Cosmochim. Acta, 63, 3959-3966. (1999)
- 9) Vink, A., Schuten, S., Sephton, S., Sinninghe Damste, J.S., "A newly discovered norisoprenoid, 2,6,15,19-tetramethylcosane, in Cretaceous black shale", Geochim. Cosmochim. Acta, 62, 965-970. (1998)

(原稿受理：平成15年1月15日)