

見本（査読を経ていません）

3. 19. ワックス

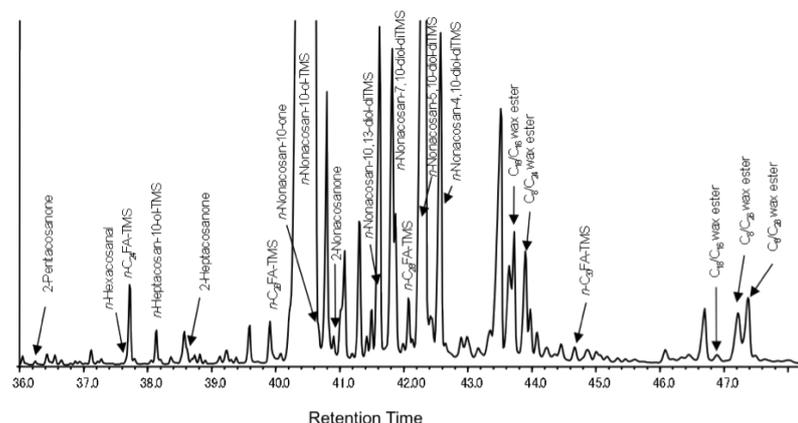
ワックスはほとんどの陸上生物の表面を覆う複雑な重層構造をもつ化合物の総称で、多くの場合長鎖の脂肪族化合物の混合物のことである（Kollattukudy, 1976）。これまでバクテリア、菌類、藻類、植物、昆虫、動物など様々な生物のワックスが分析されている（Kollattukudy, 1976; Kollattukudy and Espelie, 1989）。なかでも高等植物では、アルカン、アルケン、モノおよびジケトン、1級および2級アルコール、ジオール、飽和および不飽和脂肪酸、アルデヒド、テルペノイド、 α -あるいは ω -ヒドロキシ酸、1級アルコールあるいはトリグリセリンと脂肪酸からなるワックスエステルなどが知られている。ワックスに由来する有機物は、堆積物など地球化学における試料中にも検出され、バイオマーカーとして重要な位置を占めている。

ワックス成分の組成

図1にはセコイアオスギの葉に含まれるワックス成分の分析結果として、そのGC-MSクロマトグラムを示す。ワックス成分はヘキサンに葉を3-5秒間浸け抽出し、抽出物はトリメチルシリル(TMS)誘導体化している。

同定された主要な脂質化合物は、図1および表1に示したように、 n - C_{24} ~ n - C_{30} 脂肪酸、 n - C_{26} -アルデヒド、 n - C_{25} ~ n - C_{29} -2-ケトンおよび n - C_{29} -10-ケトン、 n - C_{27} ~ n - C_{29} -10-モノアルコール、 n - C_{29} -4,10-/-5,10-/-7,10-/-10,13-ジオール、 n - C_{16} / n - C_{16} , n - C_8 / n - C_{24} , n - C_{18} / n - C_{16} , n - C_8 / n - C_{26} , n - C_6 / n - C_{28} ワックスエステル（アルコール/脂肪酸を表す）などである。

図1 ヒノキ科、セコイア亜科、セコイアデンドロン属ギガンテウム（通称セコイアオスギ）の葉のワックス成分のトータルイオンクロマトグラム。GC-MSの測定には、Agilent社製、HP 6890 ガスクロマトグラフ/HP 5973 MSD 質量分析計を用いた。ガスクロマトグラフは、分析



カラム：Agilent DB-5（長さ 30m、内径 0.25 mm、膜厚 0.25 μ m）、注入口温度：300 $^{\circ}$ C、カラム温度：65 $^{\circ}$ C 2分恒温後、65-300 $^{\circ}$ C（6 $^{\circ}$ C/分）、300 $^{\circ}$ Cに20分間恒温、質量範囲：50-650ダルトンの条件を用いた。

表 1. Sequoiadendron giganteum, Sequoioideae, Cupressaceae の葉のワックス成分

RT (min.)	Compound	Formula	MW	Retention Index ^a	Diagnostic Ion (m/z)	Identification Label ^b
36.249	2-pentacosanone (2-C ₂₅ -one)	C ₂₅ H ₅₀ O	366	2276	58, 59, 366(M ⁺)	3
37.665	<i>n</i> -Hexacosanal (<i>n</i> -C ₂₆ -al)	C ₂₆ H ₅₂ O	380	2396	82, 96, 334(M-46), 362(M-18), 380(M ⁺)	2
37.718	<i>n</i> -Tetracosanoic acid-TMS (<i>n</i> -C ₂₄ FA-TMS)	C ₂₇ H ₅₆ O ₂ Si	440	2400	117, 132, 425(M-15), 440(M ⁺)	3
38.141	<i>n</i> -Heptacosan-10-ol-TMS (<i>n</i> -C ₂₇ -10-ol-TMS)	C ₃₀ H ₆₄ O ₂ Si	468	2439	73, 229, 341, 453(M-15), 468(M ⁺)	1
38.591	2-heptacosanone (2-C ₂₇ -one)	C ₂₇ H ₅₄ O	394	2481	58, 59, 394(M ⁺)	2
39.914	<i>n</i> -Hexacosanoic acid-TMS (<i>n</i> -C ₂₆ FA-TMS)	C ₂₉ H ₆₀ O ₂ Si	468	2600	117, 132, 453(M-15), 468(M ⁺)	3
40.377	<i>n</i> -Nonacosan-10-ol-TMS (<i>n</i> -C ₂₉ -10-ol-TMS)	C ₃₂ H ₆₈ O ₂ Si	482	2644	73, 229, 369, 481(M-15), 496(M ⁺)	1
40.668	<i>n</i> -Nonacosan-10-one (<i>n</i> -C ₂₉ -10-one)	C ₂₉ H ₅₈ O	422	2671	58, 155, 171, 295, 311, 422(M ⁺)	1
40.906	2-nonacosanone (2-C ₂₉ -one)	C ₂₉ H ₅₈ O	422	2693	58, 59, 422(M ⁺)	2
41.621	<i>n</i> -Nonacosan-10,13-diol-diTMS (<i>n</i> -C ₂₉ -10,13-diol-diTMS)	C ₃₃ H ₇₀ O ₂ Si ₂	584	2759	73, 129, 229, 269, 327, 367, 569(M-15)	1
41.819	<i>n</i> -Nonacosan-7,10-diol-diTMS (<i>n</i> -C ₂₉ -7,10-diol-diTMS)	C ₃₃ H ₇₀ O ₂ Si ₂	584	2777	73, 129, 187, 227(317-90), 317, 369, 409(499-90), 499, 569(M-15)	1
42.070	<i>n</i> -Octacosanoic acid-TMS (<i>n</i> -C ₂₈ FA-TMS)	C ₃₁ H ₆₄ O ₂ Si	496	2800	117, 132, 481(M-15), 496(M ⁺)	3
42.322	<i>n</i> -Nonacosan-5,10-diol-diTMS (<i>n</i> -C ₂₉ -5,10-diol-diTMS)	C ₃₃ H ₇₀ O ₂ Si ₂	584	2820	73, 129, 159, 227(317-90), 317, 369, 437(527-90), 527, 569(M-15)	1
42.586	<i>n</i> -Nonacosan-4,10-diol-diTMS (<i>n</i> -C ₂₉ -4,10-diol-diTMS)	C ₃₃ H ₇₀ O ₂ Si ₂	584	2841	73, 129, 145, 227(317-90), 317, 369, 451(541-90), 541, 569(M-15)	1
43.724	<i>n</i> -Hexadecyl- <i>n</i> -hexadecanoate (<i>n</i> -C ₁₆ / <i>n</i> -C ₁₆ wax ester)	C ₃₂ H ₆₄ O ₂	480	2928	224, 239, 241, 257(M-223), 269, 480(M ⁺)	2
43.896	<i>n</i> -Octyl- <i>n</i> -tetracosanoate (<i>n</i> -C ₈ / <i>n</i> -C ₂₄ wax ester)	C ₃₂ H ₆₄ O ₂	480	2941	112, 129, 157, 351, 369(M-111), 480(M ⁺)	2
44.677	<i>n</i> -Triacotanoic acid-TMS (<i>n</i> -C ₃₀ FA-TMS)	C ₃₃ H ₆₈ O ₂ Si	524	3000	117, 132, 509(M-15), 524(M ⁺)	3
46.886	<i>n</i> -Octadecyl- <i>n</i> -hexadecanoate (<i>n</i> -C ₁₈ / <i>n</i> -C ₁₆ wax ester)	C ₃₂ H ₆₄ O ₂	508	3075	239, 252, 257(M-251), 269, 297, 508(M ⁺)	1
47.217	<i>n</i> -Octyl- <i>n</i> -hexacosanoate (<i>n</i> -C ₈ / <i>n</i> -C ₂₆ wax ester)	C ₃₈ H ₇₂ O ₂	508	3086	112, 129, 157, 379, 397(M-111), 508(M ⁺)	2
47.376	<i>n</i> -Hexyl- <i>n</i> -octacosanoate (<i>n</i> -C ₆ / <i>n</i> -C ₂₈ wax ester)	C ₃₄ H ₆₈ O ₂	508	3092	84, 101, 129, 407, 425(M-83), 508(M ⁺)	2

Abbreviation: n: carbon number; FA: monoacid; alkanolic acid; TMS: trimethylsilyl derivative

^a Retention Index was measured by the programmed temperature GC-MS analysis same as in the text using the retention times of *n*-C₂₀ - *n*-C₃₄ fatty acid TMS.

^b 1: interpretation of mass fragmentation pattern, 2: comparison with mass spectrum from library (Nist02 and Wiley7n) or literature (Budzikiewicz et al., 1967; Ana and del Rio, 2003; Bauer et al., 2004; Santos et al., 2007), 3: interpretation of mass chromatogram / retention time, 4: identification by authentic standard.

以下に代表的な化合物のマススペクトル(図 2)およびその開裂様式を説明する。

アルデヒド

n-C₂₆ アルデヒド(I)のマススペクトルに示したように、*m/z* 82, 96, 334 (M-46), 362 (M-18), 380 (分子イオン) に特徴的なイオンが現れる (図 2)。特に *m/z* 82, *m/z* 96 および M-18 イオンはアルデヒドを検出する上で重要なイオンである (Prahl and Pinto, 1987)。

M-18 イオンは分子イオンから水分子が脱離したものである。その他のイオンの開裂様式を図 3 に示す。(a)の β-開裂は McLafferty 転位(i)によるもので、それぞれ(ii)-(iv)のイオンを生成する。*m/z* 82 および *m/z* 96 は炭素鎖が 7 以上の場合に起こる大環状の McLafferty 転位(v)(vii)によって生成すると考えられる (図 3 の(b)および(c))。

ケトン

カルボニル基が 2 位にある *n*-C₂₅-2-ケトンのマススペクトル(図 2 (II))では、*m/z* 58, 59, 306 (M-60)、308 (M-58), 351 (M-15), 366 (分子イオン)に特徴的なイオ

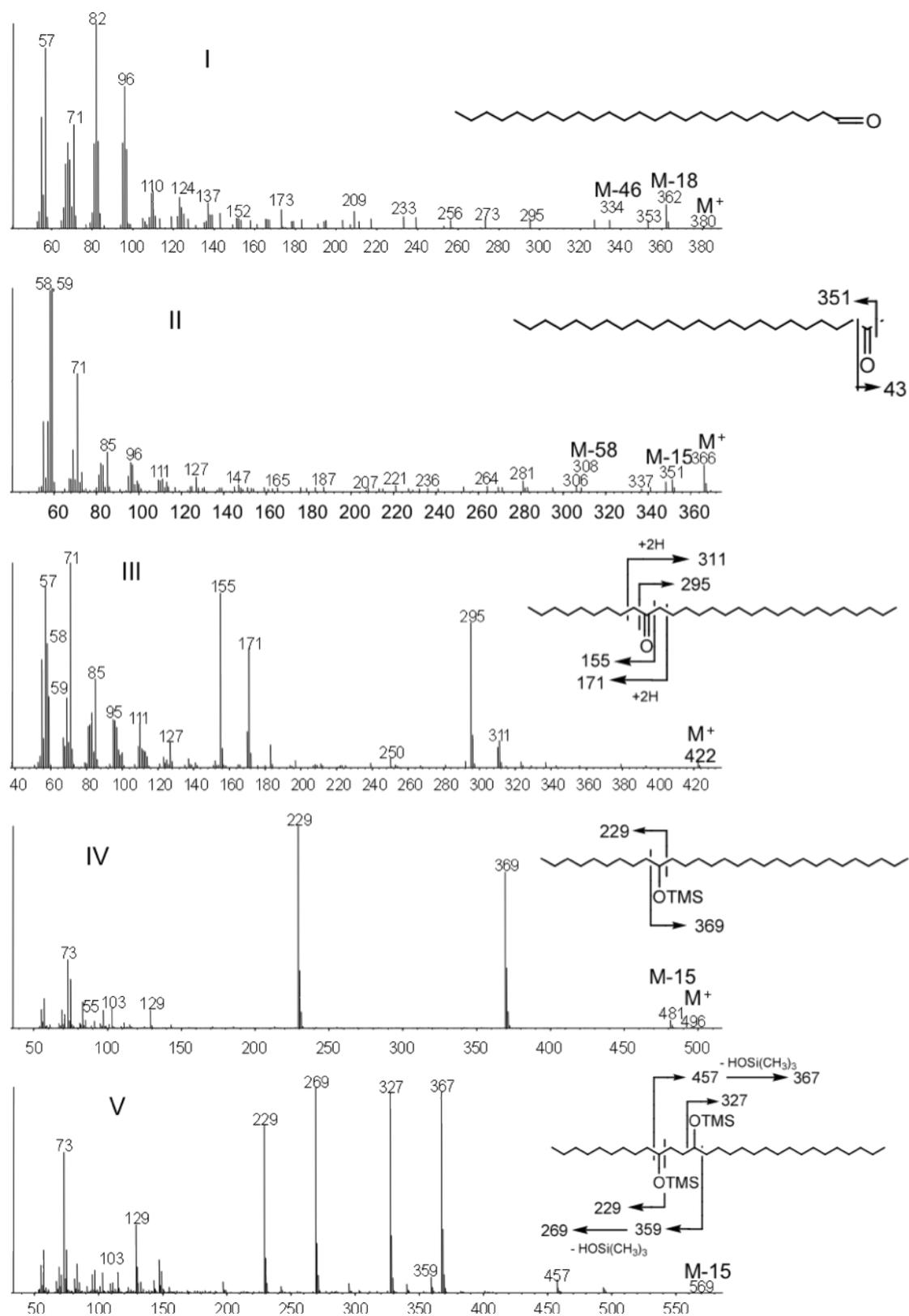


図 2 *n*-Hexacosanal (I), 2-Pentacosanone (II), *n*-Nonacosan-10-one (III), *n*-Nonacosan-10-ol-TMS (IV), *n*-Nonacosan-10,13-diol-diTMS (V)および *n*-Hexadecyl-*n*-hexadecanoate (*n*-C₁₆/*n*-C₁₆ wax ester) のマススペクトル。

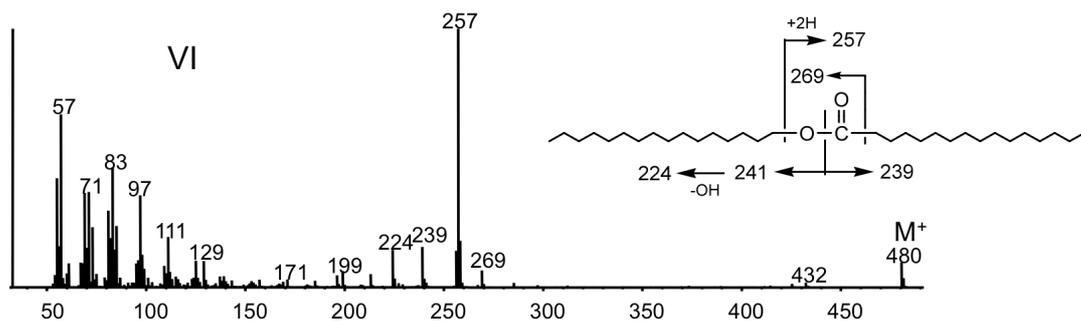
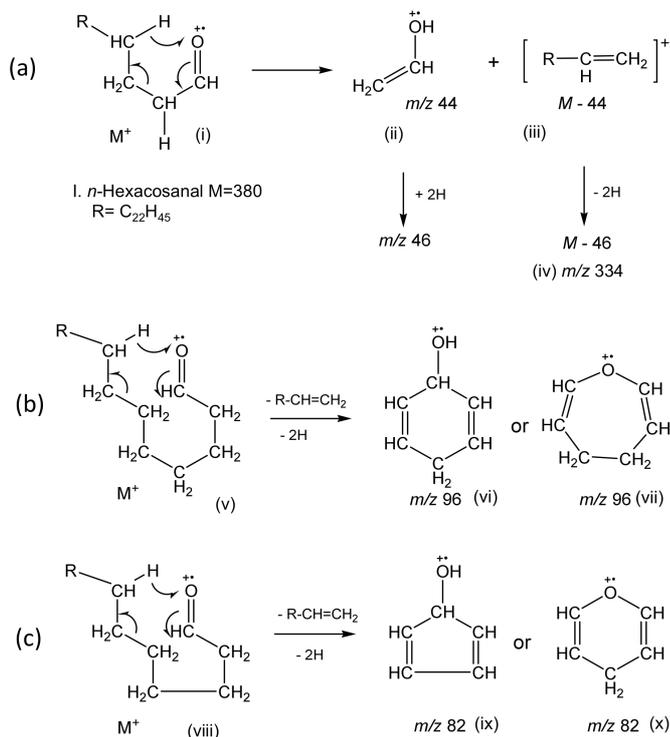


図 2 (つづき)。

図 3 アルデヒドのマスフラグメンテーション。

ンが現れる。*n*-C₂₉-10-ケトンのマススペクトル(図 2 (III))のようにアルキル鎖の中ほどにカルボニル基がある場合には、*m/z* 155, 171, 295, 311 の強いイオンと *m/z* 58, 59, 422 (分子イオン)が現れる。両者に共通の *m/z* 58, 59 イオンがケトン进行を同定する上で重要なイオンである。カルボニル基の位置によって見かけ上開裂様式が異なっているように見えるが、開裂様式は同様に説明できる。



ケトンの開裂様式の一つは、カルボニル基の α 位における α -開裂である (図 2 (II)および(III))。 *n*-C₂₅-2-ケトン(II)では、 *m/z* 351 (M-15) (ii)イオンと *m/z* 43(iii)が生成する。 *n*-C₂₉-10-ケトン(III)の場合には、 *m/z* 155(ii)および *m/z* 295(iii)の強いイオンが生成する。これらのイオンはカルボニル基の位置を知る上で重要なイオンになる。

もう一つは図 4 に示した β -開裂で、McLafferty 転位(iv)による開裂である。 *n*-C₂₅-2-ケトン(II)の場合、 *m/z* 58 の(ii)あるいは(iii)のイオンが生成する。(ii)および(iii)のイオンは、ラジカルの移動によっておこる異性化による。(ii)および(iii)イオンはさらに水素付加が起こることによって、 *m/z* 59 イオンを生成する。 *n*-C₂₉-10-ケトン(III)では、R₁およびR₃は2つの場合がある。R₁=C₁₉H₃₉の場合には、 *m/z* 310 の(ii)あるいは(iii)のイオンと、さらに水素付加による *m/z* 311 のイオ

ンが生成すると考えられる。R₁=C₉H₁₉の場合にも、同様に、*m/z* 170, 171 イオンが生成する。これらのイオンはいずれも強いイオンとして現れている (図 2 (III))。10-ケトンのようにアルキル鎖の中ほどにカルボニル基がある場合にも、*m/z* 58, 59 イオンが検出される (図 2 (III))。これらは、(ii)あるいは(iii)イオンの2次的な McLafferty 転位によって *m/z* 58(iv)あるいは (v) イオンが生成し (Budzikiewicz et al. 1967)、さらに水素付加が起こることで説明される。

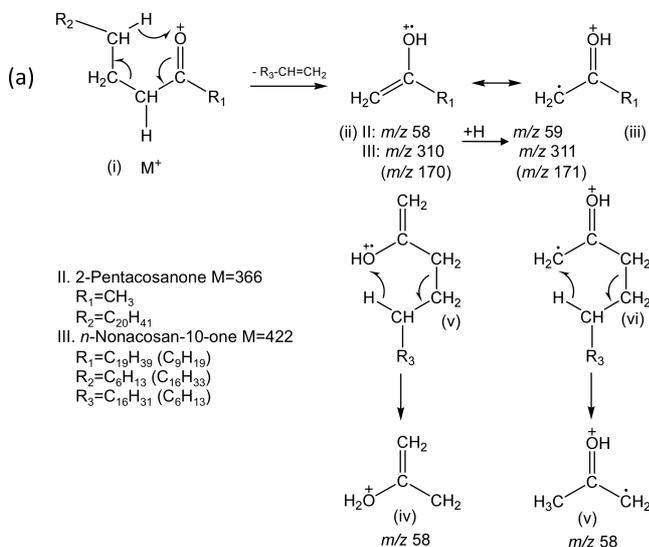


図 4 ケトンのマスフラグメンテーション

ション。

2級モノアルコールおよび2級ジアルコール

n-C₂₉-10-アルコールのマススペクトル(図(IV))では *m/z* 73, 103, 481 (M-15), 496 (分子イオン) と *m/z* 229, 369 に、特徴的あるいは強いイオンが現れる。*m/z* 73, 103, M-15 のイオンは、TMS 化されたヒドロキシ基をもつ化合物に現れるイオンであり、それぞれ[Si(CH₃)₃], [CH₂-O-Si(CH₃)₃]および TMS 誘導体の分子から CH₃ 基が脱離したものに由来する。

2級アルコール TMS 誘導体に現われている2つの強いイオンは、ヒドロキシ基のα位での開裂による(図 2)。α-開裂によって TMS 基を含むイオンが高い強度をもって現れ、一方のアルキル基はイオンとして現れない。分子イオンが現れない場合でも、[CH(OSi(CH₃)₃)-C_nH_{2n+1}]の強いイオンの解釈から炭素鎖 *n* を決めることができる。たとえば *n*-C₂₇-10-アルコール(IV)の場合、*m/z* 229 から *n*=9、また *m/z* 341 から *n*=17 が求まり、10 位にヒドロキシ基があることが分かる。

n-C₂₉-10,13-ジアルコールのマススペクトル(図(V))では、*m/z* 73, 103, 359, 457, 569 (M-15)と *m/z* 229, 269, 327, 367 に特徴的あるいは強いイオンが現れる。*m/z* 73, 103, M-15 はモノアルコールと同様に TMS 化されたヒドロキシ基をもつ化合物に特徴的なイオンである。しかし分子イオンが現れていないことから、ヒドロキシ基の位置や炭素長は生成するイオンの解釈によって求めることになる。

ヒドロキシ基が2つあるためα-開裂によって生成するイオンは、ヒドロキシ基を1つ含むイオンと、2つ含むイオンの4つのイオンが生成することになる(図 2 (V))。ヒドロキシ基を1つ含むイオンは、2級モノアルコールと同様に

[CH(OSi(CH₃)₃)-C_nH_{2n+1}]のイオンになる。ヒドロキシ基を2つ含むイオンは、[CH(OSi(CH₃)₃) -C_xH_{2x}-CH(OSi(CH₃)₃)-C_nH_{2n+1}]のイオンであるが、このイオンはさらに末端にあるヒドロキシ基[HO-Si(CH₃)₃]を1つ失い、[C-C_xH_{2x}-CH(OSi(CH₃)₃)-C_nH_{2n+1}]のイオンになる。以上のことから、n, xを求めることによって構造を決めることが可能になる。たとえば、*n*-C₂₉-10,13-ジアルコール(V)の場合、*m/z* 229 から *n*=9 と *m/z* 327 から *n*=16 が求まる。次に、*m/z* 457, 367 と *m/z* 359, 269 のように質量が 90 異なるイオンが、2つヒドロキシ基をもつイオンと1つヒドロキシ基を失ったイオンであることを示している。これより *x*=2 ととなり、*n*-C₂₉-10,13-ジアルコール(V)であることが分かる。

ワックスエステル

n-C₁₆/*n*-C₁₆ ワックスエステルのマススペクトル(図 2 (VI))では *m/z* 224, 239, 269, 480 (分子イオン) および *m/z* 257 に特徴的あるいは強いイオンが現れる。

ワックスエステルの開裂の一つは、図 2 (VI)に示すように、カルボニル基の α 位における開裂である。脂肪酸側の α 位で開裂が起こった場合、*n*-C₁₆/*n*-C₁₆ ワックスエステル(VI)では *m/z* 269 のイオンが生成する。この質量数から *m/z* 44 [O-C=O]を指し引いた部分がアルコール側の炭素鎖を示すことになる。これよりアルコールの炭素長は 16 であることになる。一方、カルボニル基のアルコール側の α 位で開裂が起こった場合、*n*-C₁₆/*n*-C₁₆ ワックスエステル(VI)では *m/z* 239, 241 イオンが生成するが、*m/z* 241 イオンはさらに *m/z* 17 [OH]が脱離し、*m/z* 224 イオンになる。*m/z* 239 イオンは脂肪酸側の炭素鎖を示すので、これより炭素鎖は 15 であることが分かる。以上のことから *n*-C₁₆/*n*-C₁₆ ワックスエステル(VI)であると解釈される。また、最も強い *m/z* 257 イオンはカルボニル基のアルコール側の β 位における開裂による(Budzikiewicz et al. 1967)。

引用文献

- Budzikiewicz, H., Djerassi, C. and Williams, D.H. (1967) *Mass spectrometry of organic compounds*, 邦訳：中川有造・池田正澄 訳(1973) *有機化合物のマススペクトル*, pp699、丸善株式会社
- Kolattukudy, P.E. (1976) *Chemistry and Biochemistry of Natural Waxes* (ed. Kolattukudy, P.E.), Elsevier, pp 1-15.
- Kolattukudy, P.E., Croteau, R. and Buckner, J.S. (1976) *Chemistry and biochemistry of natural waxes* (ed. Kolattukudy, P.E.), Elsevier, pp 236-287.
- Kolattukudy, P.E. and Espelie, K.E. (1989) *Natural Products of Woody Plants I* (ed. Rowe, J.W.), Springer-Verlag, pp 304-367.
- Prahl, F.G. and Pinto, L.A. (1987) *Geochimica Cosmochimica Acta*, **51**, 1573-1582.

執筆者：山本修一