イワシ鯨皮油の不ケン化物

プリスタンおよびスクワレンの存在

橋本哲太郎・間室秀夫

工業技術院東京工業試験所 (東京都渋谷区本町 1 丁目)

Unaponifiable Matter of Sei-Whale Blubber Oil

Presence of Pristane and Squalene

Tetsutarō HASHIMOTO and Hideo MAMURO

Government Chemical Industrial Research Institute, Tokyo

(1-chōme, Honmachi, Shibuya-ku, Tokyo)

The unaponifiable matter in the blubber oil of sei-whale (*Balaenoptera borealis*, Lesson) was fractionated by column chromatography with activated alumina. Two fractions which appeared to contain hydrocarbons were analyzed by IR, NMR, and Mass spectrometry and by gas-liquid chromatography. The results showed that the oil contained pristane and squalene.

1 緒 言

著者ら¹⁾はさきに工業用イワシ鯨油の不ケン化物中にスクワレンが存在することを報告した。鯨油中にスクワレンが存在することは生物化学的にも興味ある事実と考えられるので、出所の明らかなイワシ鯨皮油についてスクワレン存在の再確認を行なうため本実験を実施した。

鯨油不ケン化物の炭化水素成分については報告がきわめて少ない。古く辻本²⁾、木村³⁾はマッコウ鯨の肝臓からエーテル抽出した脂肪物質の不ケン化物を検索し、主として臭素付加および塩化水素付加の試験結果から、スクワレンの高級同族体と考えられる高度不飽和炭化水素(おそらく $C_{35}H_{60}$)が少量存在すると報告した。その後辻本³⁾はナガス鯨肝臓のエーテル抽出脂肪物質の不ケン化物について前記とほとんど同様な方法で不飽和炭化水素が存在すると推定した。土屋、田中⁴⁾はイワシ鯨肝臓の脂肪物質の不ケン化物を検索し、溶剤分別およびカラムクロマトグラフィーによって分別して得た区分の化学的、物理的性状および元素分析から不飽和度の高い炭化水素が存在すると報告した。

今回日本近海産イワシ鯨の皮油不ケン化物からカラムクロマトグラフィーによって炭化水素を主成分とする区分を分取し、ガスクロマトグラフィー、赤外線吸収スペクトル、核磁気共鳴吸収スペクトル、質量スペクトル分析により成分の検索を行なった。その結果、スクワレンの存在を再確認するとともに、プリスタンが存在する新事実を明らかにした。

2 実験および結果

2・1 試料油

本実験に用いた試料油は 1966 年 5 月金華山沖北緯 38°08', 東経 147°22' で捕獲された体長約 12 m の雌イワシ鯨 (*Balaenoptera borealis*, Lesson) の鯨皮から煮取法で採油されたものである。室温(約 25°C)で多量の固体を含む赤カッ色液状油で、その一般性状はつぎのとおりである。 d_4^{20} 0.9193, n_D^{20} 1.4758, 酸価 0.98, ケン化価 189.1, ヨウ素価 (Wijs 法) 135.5, 不ケン化物 1.18%。

2・2 不ケン化物成分の分離

試料油中には油脂以外のキョウ雑物を含むので加温ロ別した。その 2 kg を 2 N-エタノールカリ液でケン化したのちエチルエーテルを用い常法により不ケン化物を分離した。このものは可ケン化物を相当量含んでいたもので 2 N-エタノールカリ液で再ケン化し、エーテルで不ケン化物を抽出した。このようにして得た不ケン化物は赤カッ色粘チヨウ性固体で、収量は 10.0 g であった。

上記不ケン化物に 50 ml の石油エーテル(以下石油エーテルは bp 60°C までのものをういた)を加えて加温溶解し、約 5°C において 72 hr 放置して析出した不溶部(おそらく主としてステリン)をロ別し、不溶部はさらに約 5°C の石油エーテル 10 ml で 3 回洗浄した。ロ液および洗液から溶剤を蒸留除去して赤カッ色油状物質 6.1 g を得た。この油状物質は 60 ml の石油エーテルに溶解し、これをメルク社製活性アルミナ 600 g (200

~300 mesh, 活性度 3 以下) を詰めたカラム 4.0×90.0 cm に流し入れ, さらに石油エーテルを用いて展開した。流出された石油エーテル溶液は 170 ml ずつに分割し, 溶剤を除去して得られた各区分の収量を流出してきた順に列挙すると, 0.6873 g, 0.7992 g, 0.0366 g でこれよりも後の石油エーテル展開液 (510 ml) にはこん跡程度の試料しか認められなかった。これら各区分は無色透明な液体であった。

2.3 区分-1 の検索

区分-1 は一番初めに流出された区分でカラムクロマト条件から炭化水素区分であると考えられるが, この点は後述するように赤外線吸収スペクトルおよび核磁気共鳴吸収スペクトルの分析結果からも支持される。**Fig.-1** に区分-1 のガスクロマトグラムを示した。測定条件はつぎのとおりである。装置島津製 GC-1 B, カラム 4mm×3 m, カラム充填物アピエゾン L をクロモソルブ W に保持させたもの, カラム温度 260°C, キャリヤーガス He 流量 80 ml/min。**Fig.-1** によれば, 主ピーク b のほかに少量の a および微量の c ピークが存在する。水素添加処理によりピーク a および b は変化しないから, 両者とも飽和炭化水素とみなされる。直鎖飽和炭化水素を用いて同定を試みたが, ピーク a は C_{15} , ピーク b は C_{17} の直鎖飽和炭化水素の保持時間に比較的近いが一致はしない。したがって後述するように側鎖を有する炭化水素と考えられ。区分-1 はガスクロマトグラム分析によれば主成分 (ピーク b) が 95% を占めておりその平均分子量 (Mechrolab 社 301 A 型 Vapor Pressure Osmometer で測定) は 267.9 であった。

Fig.-1 Gas-liquid chromatograms of fraction-1.

区分-1 の赤外線吸収スペクトル (Perkin Elmer 337 型回折格子赤外分光器, 薄膜法で測定。ただし, 1300~600 cm^{-1} の範囲は 0.15 mm のスペーサーを用いた) は **Fig.-2** に示したように, OH, C=O, C-O などの特性吸

Fig.-2 Infrared absorption spectrum of fraction-1.

収帯が存在しない。1380 および 1370 cm^{-1} にダブルレットの吸収帯が, また 1170 cm^{-1} (1150 cm^{-1} 付近に, shoulder を伴う) に吸収帯が存在し, 前者は末端イソプロピル基の C-H の変角振動による吸収帯に, 後者は同じく末端イソプロピル基の骨格振動に帰属される⁵⁾。また 735 cm^{-1} に強い吸収帯があり, これはイソプレニド ($R-(CH_2)_3-R$) のメチレンの変角振動に基づくものと考えられる⁵⁾。以上の赤外線吸収スペクトル分析結果から区分-1 はイソプレニド系炭化水素を主成分とするものと考えられ, プリスタンの赤外線吸収スペクトル⁵⁾と全体的によく一致する。

Fig.-3 に Varian HA-100 NMR スペクトロメーターを用い 10 wt% 四塩化炭素溶液で測定した区分-1 のスペクトルを示した。9.14 および 9.19 ppm のダブルレットのシグナルはメチル基, 8.73 ppm のシグナル (8.78 ppm 付近に shoulder がある) はメチレン基およびメチン基と考えられ^{5)~7)}, 末端がイソプロピル, 分子の途中に側鎖があるとする前記の赤外線吸収スペクトルからの知見を支持するものである。

Fig.-3 NMR spectrum of fraction-1.

つぎに CEC 社製 21-103 C 型質量分析計を用いて質量スペクトルは測定したが, これより得られる知見は上記赤外線吸収スペクトル, 核磁気共鳴吸収スペクトルの結果をさらに裏づけるものである。その結果は **Table-1** に 2,6,10,14-テトラメチルペンタデカン (プリスタン) の文献値⁵⁾ とともに記した。分子イオンは m/e 268 で

Table-1 Mass spectral data (relative intensities) of A* fraction-1 and of B synthesized pristane⁴⁾.

<i>m/e</i>	A	B	<i>m/e</i>	A	B
57	100.0	100.0	154	0.9	1.09
69	17.39	16.2	155	1.75	2.10
70	9.86	8.8	169	0.47	0.54
71	65.08	69.6	182	2.14	3.60
83	6.44	4.84	183	5.69	9.68
84	4.92	4.32	197	0.34	0.50
85	23.9	26.1	211	0.12	0.16
97	5.76	5.16	225	0.19	0.32
99	7.46	7.61	239	0.17	0.34
112	9.42	11.8	253	0.31	0.65
113	12.81	16.2	268	0.15	0.22
126	2.44	2.76	278	0.05	—
127	4.37	5.20	292	0.03	—
141	1.83	2.16			

* Mass spectrometer Model CEC 21-103; electron accelerating voltage 70 eV, reservoir temperature 140°C, ion source temperature 250°C.

あり、さらに *m/e* 113 および 183 に強いアルキルフラグメントイオンが見られるが、これはそれぞれ $C_6H_{17}^+$ および $C_{13}H_{27}^+$ イオンのピークと考えられ、6, 10 位に側鎖を有すると考えられる。そのほか各フラグメントの *m/e* の強度は **Table-1** に示したように純プリスタンの文献値とよく一致した。

以上の赤外線吸収スペクトル、核磁気共鳴吸収スペクトル、質量スペクトルの各スペクトル分析結果から区分-1 の主成分はプリスタンと認められる。すなわち、ガスクロマトグラム (**Fig.-1**) のピーク b はプリスタンであると認められる。

なお、区分-1 には **Fig.-1** のガスクロマトグラムに示されるようにプリスタンよりも分子量の小さい飽和炭化水素 (イソパラフィン系) と高分子量の物質が含まれる。後者については質量スペクトルにおいて *m/e* 278 および 292 にきわめて弱いながらピークが認められる事実からも推定される。また、核磁気共鳴吸収スペクトルにおいて積分機による 25 回掃引結果によれば、**Fig.-3** に示したようにきわめて微量ながら不飽和結合を有する物質の存在が推定される。以上から、プリスタンよりも分子量の大きい不飽和炭化水素が区分-1 に微量存在すると思われる。

2.4 区分-2 の検索

区分-2 のガスクロマトグラムは **Fig.-4** (A) に示したように 3 個のピークを有し、このうちピーク a および b は区分-1 のピーク a および b (**Fig.-1**) と一致する事実から区分-2 にもプリスタンが存在することがわかる。**Fig.-4** のガスクロマトグラムは試料注入量 (4 μ l) に比べてピーク面積が明らかに小さいので *n*-オクタデカンを内部標準に用いて検討した結果、ガスクロマトグラム

に現われない未検出物質が試料に対して 82.1% を占めた。すなわち区分-2 は区分-1 に比較して分子量の大きい物質が主成分であると考えられる。**Fig.-4** (B) に、区分-2 の水素添加物に *n*-オクタデカン および *n*-エイコサデカン (図中斜線を施したピーク) を添加した試料のガスクロマトグラムを示した。(A) における d は消失し、新たにピーク d' を生成した。ピーク d' の成分は保持時間からみて直鎖状炭化水素でない。したがって、**Fig.-4** (A) のピーク d を与える成分はおそらく側鎖を有する不飽和炭化水素であろう。

Fig.-4 Gas-liquid chromatograms of fraction-2: (A) before and (B) after hydrogenation.

つぎに水素添加した区分-2 を **Fig.-4** に用いたカラム充填物よりも固定液相の担体に対する比率を少なくしたカラムを用い温度を高くして測定結果は **Fig.-5** (A) のとおりでピーク d よりもかなり遅れて大きなピーク e が現われたが、このピークは、スクワラン* のピーク (**Fig.-5** (B)) と一致した。装置日立製 KGL-2 B, カラム 3 mm $\times$ 1 m, カラム温度 290°C, 水素 0.6 kg/cm², 窒素 0.2 kg/cm², FID 検出器付き。

区分-2 の核磁気共鳴吸収スペクトルは **Fig.-6** に示した。シグナル A および B は **Fig.-3** と対比させると明らかなようにプリスタンのプロトンによるもので、上記ガスクロマトグラム (**Fig.-4**) からの情報を裏づけるものである。また、シグナル E は $\text{—}\dot{\text{C}}\text{—CH}_2\text{—}\dot{\text{C}}\text{—}$ に、シグナル G は —CH=CH— に帰属される⁸⁾。残りのシグナル C, D および F を同定するためにスクワレン** の NMR スペクトルを **Fig.-7** に示した。各シグナルは図面上にも記したように 8.43 ppm のシグナルは *trans*

* 市販のスクワランを減圧蒸留法および活性アルミナによるカラムクロマトグラフィーで精製した。

** 粗スクワレンをケン化して可ケン化物を除き、減圧蒸留を行なったのち活性アルミナを用いるカラムクロマトグラフィーにより精製を行なった。

Fig.-5

Gas-liquid chromatograms of:
(A) hydrogenated fraction-2
and (B) squalane.

るので、核磁気共鳴吸収スペクトルにおける E および G のシグナルから区分-2 中にはジビニルメタン構造を有する不飽和炭化水素も存在し、Fig.-4・(A) で認めたピーク d はおそらくこれに相当するものであろう。

Fig.-6 NMR spectrum of fraction-2.

Fig.-7 NMR spectrum of squalane.

つぎに水素添加した区分-2 および対照として用いたスクワランの質量スペクトルを CEC 21-110 B 型スペクトロメーターで測定した結果を Fig.-8 および Fig.-9 に示した。Fig.-9 において分子イオンピーク 422 および同位元素 ピーク ($M+1$) 423 が認められ、 m/e 407 ($M-15$), 379, 337, 309, 267, 239, 183, 155, 113, 85, 43 に強いピークが存在する。以上の分析結果はスクワ

Fig.-8 Mass spectrum of hydrogenated fraction-2, CEC Model 21-110 B Mass spectrometer, electron accelerating voltage 70 eV, ion source temperature (directly introduced) 100~120°C.

Fig.-9 Mass spectrum of squalane, CEC Model 21-110 B Mass spectrometer, electron accelerating voltage 70 eV, ion source temperature (directly introduced) 100~120°C.

ランが 2, 6, 10, 15, 19, 23-ヘキサメチルテトラコサンとする従来から認められている構造を支持するものである。水素添加した区分-2 のスペクトル (Fig.-8) を Fig.-9 と対比させるとスクワランが含まれることが容易に認められる。ただ区分-2 にはプリスタンなどスクワレンよりも低分子量の炭化水素が含まれるので m/e の比較的低いところのピークは Fig.-9 よりも大きい。なお, m/e 436 に小さいピークを認めたが, その原因は明らかでない。

以上の分析結果から区分-2 にスクワレンが存在する事実が確認された。区分-2 には主成分スクワレンのほかに, プリスタン, プリスタンよりも分子量の小さい炭化水素が混在し, さらにおそらくジビニルメタン構造を有する不飽和炭化水素も存在するであろうと推定される。

終わりに, イワシ 鯨油を寄贈された日本水産株式会社中央研究所大倉俊一氏, 質量スペクトルの測定と助言をいただいた当所和佐田宣英氏, 核磁気共鳴吸収スペクトルの測定と助言をいただいた当所早水紀久子氏, 日清製油株式会社臼井 浩氏, 実験の一部を担当された東海大学学生武田正邦氏, 以上の方々に感謝いたします (本研究は昭和 41 年 10 月油化学研究発表会 (大阪) において発表した)。

(昭和 42 年 7 月 25 日受理)

文 献

- 1) 橋本, 間室, 昭和 40 年度油化学研究発表会 (東京) (1965)
- 2) 辻本, 木村, 東工試, **22** (12), 53 (1927)
- 3) 辻本, 東工試, **25** (4), 51 (1930)
- 4) 土屋, 田中, 東工試, **50**, 367 (1955)
- 5) J.G. Bendoraitis, B.L. Brown, L.S. Hepner, *Anal. Chem.*, **34**, 49 (1962)
- 6) K.W. Bartz, N.F. Chamberlain, *Anal. Chem.*, **36**, 2151 (1964)
- 7) A.K. SenGupta, H. Peters, *Fette-Seifen Anstrichmittel*, **68**, 349 (1966)
- 8) 橋本, 椎名, 間室, 工化, **68**, 1434 (1965)
- 9) R.B. Bates, D.M. Gale, *J. Am. Chem. Soc.*, **82**, 5749 (1960)
- 10) M.A. Golub, S.A. Fuqua, N.S. Bhacca, *J. Am. Chem. Soc.*, **84**, 4981 (1962)
- 11) H.Y. Chen, *Anal. Chem.*, **34**, 1793 (1962)