

学位論文題名

A Study on Removal and Accumulation of Bisphenol-A by Host-guest Complexation Using Cyclodextrin Linked Chitosan

（シクロデキストリン結合キトサンとのホスト・ゲスト複合体形成によるビスフェノールAの除去と集積に関する研究）

学位論文内容の要旨

我々人類の生活は様々な化学物質、工業製品に依存し成り立っている。ところが最近になり、これまで安全と考えられ環境中に放出されてきた界面活性剤、農薬、プラスチック等の中に生物の自己保存、もしくは種の存続を脅かす物質が含まれていることが危惧されるようになってきた。現在、危険性が指摘されている物質はビスフェノールAなど約70種あり、主として性ホルモンエストロゲンに類似の芳香環を有した化合物である。こうした物質はホルモン受容体に誤って認識され、ホルモン作用を乱すことから内分泌攪乱物質（EDCs）と呼ばれるようになった。申請者はシクロデキストリン（CD）結合キトサンという新規に合成された多糖誘導体を用い、EDCsの一種であるビスフェノールAの除去・集積を目指し研究を行った。

第1章では、円二色性スペクトル及びUV-可視吸収スペクトルの2種類の分光学的手法により、CD結合キトサンのCD部分におけるEDCsとのホストゲスト複合体形成による包接性及び選択性について検討した。円二色性スペクトル測定の結果、EDCsの一種であるビスフェノールAが β -CD結合キトサンに包接されることが示された。またニトロフェノール類をゲスト分子として用いた系での測定により、ホストゲスト複合体形成においてゲスト分子の方向性及び立体構造が包接性及び選択性に依存することが示された。次にUV-可視吸収スペクトル測定により、ホストゲスト複合体形成における解離定数の算出を行った。ビスフェノールAと β -CD結合キトサンの解離定数は 7.5×10^{-4} Mであり、以前の報告により包接性が高いとされていた

-

ニトロフェノールと α -CDの解離定数 2.2×10^{-4} Mと同程度の値を示した。

第2章では、CD結合キトサンのキトサン部分の高分子量、ポリカチオン性を利用したビスフェノールAの環境中からの除去方法の検討を行った。まず、キトサンの高分子量の性質を利用した限外濾過による除去方法について検討した。 1.0×10^{-4} M及び100 ppbレベルに相当する 4.4×10^{-7} MのビスフェノールA水溶液中にCD結合キトサンを添加し、分子量60,000のCD結合キトサンのCD部分においてビスフェノールAとのホストゲスト複合体を形成させた後、分画分子量10,000の濾過膜を用い限外濾過を行い、UV-可視吸収スペクトルにより除去率を算出した。その結果、それぞれ77.7%及び51.4%の除去率でビスフェノールAの回収が可能であった。次にキトサンのポリカチオン性の性質を利用したポリイオン複合体形成による除去方法について検討した。 1.0×10^{-4} MのビスフェノールA水溶液にポリカチオン性であるCD結合キトサンを添加し、ホストゲスト複合体を形成後、ポリアニオン性であるアルギン酸ナトリウムを添加することでポリイオン複合体を形成させ沈殿を得る。得られた沈殿を遠心分離機により回収、溶解後、UV-可視吸収スペ

クトルにより除去率を算出した。その結果、80.2%の除去率でビスフェノール A の回収が可能であった。また、ゲスト分子にニトロフェノール類を用いた上記 2 種類の除去方法の検討において、ゲスト分子の立体構造が除去率に大きく依存することから、CD 結合キトサンによるビスフェノール A の選択的な除去の可能性が示された。

第 3 章では、第 2 章で示された除去方法とキャピラリー電気泳動との組み合わせたビスフェノール A の微量分析方法について検討を行った。100 ppb レベルのビスフェノール A 水溶液は低濃度であるため、キャピラリー電気泳動によりピークを確認することができない、そこで 100 ppb のビスフェノール A 水溶液 1000 mL を第 2 章で述べた限外濾過法に従い 20 mL に濃縮後、キャピラリー電気泳動を用いた分析を行った。限外濾過をキャピラリー電気泳動の前処理として応用することで、20 mL に濃縮されたビスフェノール A はキャピラリー電気泳動においてピークとして確認することが可能になった。また、上記に示されるように、1000 mL の溶液をキャピラリー電気泳動の必要最小量である 0.01 mL まで濃縮することが可能であることが判明し、現在の EDCs が問題とされている低濃度で適用可能であることが示された。

第 4 章では、キトサンのアミノ基を利用した架橋により水不溶性のキトサンビーズを成形後、CD 導入を行うことにより、CD 結合キトサンビーズを新規に合成し、ビスフェノール A の更に効率的な除去法について検討を行った。得られた CD 結合キトサンビーズは含水率が高く、ビーズ内部、表面の電子顕微鏡撮影により多孔質であることが示された。CD 結合キトサンビーズを充填させたカラムに 1.0×10^{-4} M 及び 100 ppb レベルのビスフェノール A 水溶液をそれぞれ流速 1 mL/min、50 mL/min で流し、キトサンビーズに固定化された CD 部分におけるホストゲスト複合体をビスフェノール A と形成させた。その後、疎水溶媒であるメタノールを添加し、CD に包接されていたビスフェノール A を回収後、UV-可視吸収スペクトルにより除去率を算出した。その結果、それぞれ 78.6%及び 64.6%の除去率でビスフェノール A の回収が可能であった。また、ゲスト分子にニトロフェノール類を用いた同様の検討において、ゲスト分子の立体構造が除去率に大きく依存することから、CD 結合キトサンビーズによるビスフェノール A の選択的な除去の可能性が示された。

第 5 章では、本研究における結論と今後の展望について述べられている。

以上の結果より、本論文では β -CD 結合キトサン及び β -CD が EDCs の一種であるビスフェノール A とホストゲスト複合体を形成することを見出された。また CD 結合キトサンのキトサン部分の高分子量、ポリカチオン、架橋可能なアミノ基の性質を利用したそれぞれ限外濾過、ポリイオン複合体形成、CD 固定化カラム方法により、ビスフェノール A の除去方法の可能性が示された。更に先の除去方法とキャピラリー電気泳動の組み合わせによるビスフェノール A の微量分析の可能性が示された。今後、より最適なホストと EDCs (ゲスト) の組み合わせを見出すことで、ビスフェノール A 以外の EDCs の除去・集積への応用が可能であることが示された。以上で述べたように、この研究は CD 結合キトサンを用いることにより、目的の EDCs のみを環境中から除去・集積するシステムの構築につながるものと考えられる。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 坂 入 信 夫
副 査 教 授 西 則 雄
副 査 助 教 授 覚 知 豊 次
副 査 助 教 授 野 水 基 義

学 位 論 文 題 名

A Study on Removal and Accumulation of Bisphenol-A by Host-guest Complexation Using Cyclodextrin Linked Chitosan

(シクロデキストリン結合キトサンとのホスト・ゲスト複合体形成
によるビスフェノールAの除去と集積に関する研究)

これまで安全と考えられ環境中に放出され続けてきた界面活性剤、農薬、プラスチック等の中に、生物の種の存続を脅かす物質が含まれていることが次第に明らかにされてきた。こうした物質はホルモン受容体に誤って認識され、ホルモン作用を乱すことから内分泌攪乱化学物質（EDCs，環境ホルモン）と呼ばれるようになった。しかも、この新しい汚染物質は現在の測定技術の限界に近い極低濃度で作用することから、更に深刻な環境問題とされている。申請者は、ホルモンがレセプタータンパク質に分子認識され複合体を形成する過程を模倣した人工的な系でこのような汚染物質を除去することが可能な機能性材料の開発について研究を行った。研究に用いた素材はシクロデキストリン（CD）結合キトサンという新規に合成された多糖誘導体で、EDCsの一種であるビスフェノールAを選択的に除去・集積できることを見いだした。

第1章では、円二色性スペクトル及びUV-可視吸収スペクトルの2種類の分光学的手法により、CD結合キトサンのCD部分におけるビスフェノールAとのホストゲスト複合体形成による包接性及び選択性について検討されている。その結果、ビスフェノールAが β -CD結合キトサンに包接されることが示され、解離定数が 7.5×10^{-4} Mと強固な複合体が形成されることを見出した。この事実はEDCsがCDによって分子認識され、選択的な包接複合体の形成が可能であることを実験的に証明したものである。

第2章では、CD結合キトサンが高分子化合物であることならびにキトサン部分がポリカチオン性を有していることに着目して、ビスフェノールAの除去法の検討が行われている。その結果、濃度23ppm及び100ppbのビスフェノールA水溶液へCD結合キトサン

を加え限外濾過を行うことにより、高分子化合物である CD 結合キトサンに包接されたビスフェノール A がそれぞれ 77%、51%で除去できることを見出した。また、濃度 23ppm のビスフェノール A 水溶液に CD 結合キトサン及びアルギン酸ナトリウムを添加すると、ポリイオン複合体の沈殿が生成し、これを分別することで 80%のビスフェノール A の除去が可能であることが示された。

第 3 章では、第 2 章で示された除去方法とキャピラリー電気泳動との組み合わせによるビスフェノール A の微量分析方法について検討が行われている。その結果、濃度 100 ppb のビスフェノール A 水溶液を前述した CD 結合キトサンを用いた限外濾過法により濃縮を行った後、キャピラリー電気泳動へと導入することで微量の内分泌系攪乱化学物質の検出・同定が可能であることが示された。

第 4 章では、不溶性の CD 結合キトサンビーズを新たに合成しそれを用いて、更に効率の良いビスフェノール A 除去のためのモデル実験を行った結果について述べている。まず、キトサンのアミノ基を架橋することにより水不溶性のキトサンビーズを調製した後、還元のアミノ化法で CD の導入を行った。得られた CD 結合キトサンビーズを充填したカラムに、濃度 23ppm 及び 100 ppb のビスフェノール A 水溶液を通過させ吸着量を測定した。その結果、ビスフェノール A は CD 結合キトサンビーズに吸着され、水洗を続けても溶出は認められないことが判明した。その後、90%メタノールでの洗浄により添加したビスフェノール A の約 70%が回収され、ビスフェノール A の分離・濃縮が可能であることが示された。

第 5 章では、本研究における結論と今後の展望について述べられている。

上記に示す通り、申請者の発見を基盤として、新しい分子認識に基づく EDCs の除去・集積についての研究過程を述べている。すなわち本論文では、EDCs の一種であるビスフェノール A とホストゲスト複合体を形成する CD 結合キトサンの高分子量、ポリカチオン、架橋可能なアミノ基の性質を利用した、限外濾過、ポリイオン複合体形成、CD 固定化カラム方法により、ビスフェノール A の除去方法の可能性が示されている。更に先の除去方法とキャピラリー電気泳動の組み合わせにより、ビスフェノール A の微量分析の可能性が示されている。この研究は CD 結合キトサンを用いることにより、目的の EDCs のみを環境中から除去・集積するシステムの構築につながるものと考えられる。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、また申請者は研究者として誠実かつ熱心であると考え、大学院過程における研鑽や単位取得なども併せ申請者が博士（地球環境科学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。