

β-シクロデキストリンによる廃水からの 17β-エストラジオールの回収

九州大学工学部 学生会員 ○Chanhyung Jeon 九州大学工学研究院 正会員 大石京子

1. 目的

人畜由来の天然エストロゲンや医薬品として開発された人工合成女性ホルモンは水域においてエストロゲン作用を有し、前者は後者に比べて高い活性があることが報告されている。天然エストロゲンにはエストロン (E1)、 17β -エストラジオール (E2)、エストリオール (E3) が存在する。エストロゲン活性は E2 が最も高く、次いで E3、E1 の順である。下水処理場では E2 はそのほとんどが除去されているが、活性汚泥では E2 をエストロゲン活性のより低い E1 や E3 へ変換してもステロイド環の開環までの分解は困難である。従って、環境水に放出されるエストロゲンの総量が減少することではなく、総合的に低減するためには比較的高濃度で存在する発生源で回収することも一策である。筆者らは各種シクロデキストリンの中で β -CD や HP- β -CD が選択的に E2 と包接錯体を形成し、エストロゲン活性を抑制することを報告した¹⁾。包接される部位を考慮すると、E1 及び E3 も β -CD と錯体を形成することは可能である。エストロゲンは脂溶性であるが、 β -CD は水溶性で、有機溶媒に不溶である。これらの性質を利用して、エストロゲンを β -CD との錯体として回収し、後にメタノールを用いてこの錯体からエストロゲンと β -CD を解離させて別々に回収することが可能である。しかし、エストロゲンは β -CD と錯体を形成することで水への溶解度が増加するため、回収方法を検討する必要がある。

そこで、本研究は水への溶解度が小さい β -CD を溶解度以上に投入して、E2/ β -CD 錯体を沈殿物として回収することを目的として E2 と β -CD のそれぞれの高い回収率が得られるメタノール濃度について検討した。

2.実験方法

2.1 E2/ β -CD 錯体の回収率に及ぼすメタノール濃度の影響

図 1 に E2 の回収方法を示す。10⁻⁴mol/L の E2 を 20、30、40、45、50%の各メタノール溶液 (L₁) で調整し、これに β-CD を 10%(w/v) になるように添加し、室温で 2 時間混合した。その後、この懸濁液を遠心分離(5 分、

3000rpm)し、上澄み水液 (L₂) は保存し、沈殿物中の E2/ β -CD 錯体から E2 を溶出させるため、沈殿物 A に 70%メタノール溶液を加えた²⁾。攪拌後にこの溶液を再度、遠心分離(5 分、3000rpm)し、上澄み水液 (L₃) は保存し、沈殿物は乾燥させ、その量を測定した。ELISA 法で L₁, L₂, L₃ の E2 濃度を測定し、E2 の回収率を求めた。

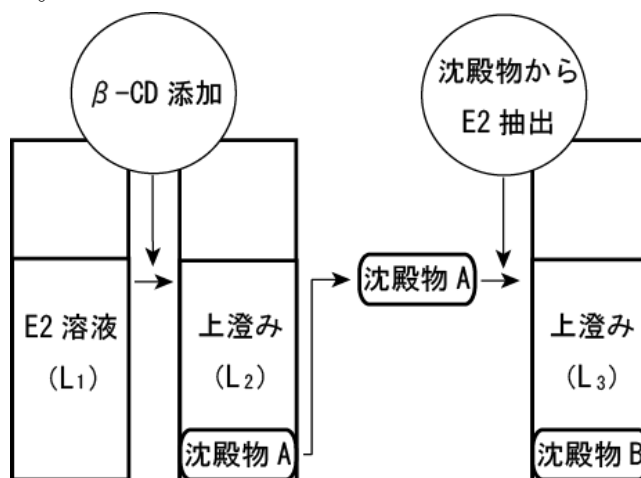


図 1 E2 の回収方法

2.2 E2/ β -CD 錯体形成に及ぼすメタノール濃度の影響

10^{-4} mol/L の E2 を 40、45、50% の各メタノール溶液で調整し、各々二つに分け、片方のみに 10^{-4} mol/L になるように β -CD を添加した。室温で 2 時間混合した後、励起波長 265nm における蛍光スペクトルを測定することで錯体形成の確認を行った。

3.結果及び考察

20～50%メタノール濃度における E2/ β -CD 錯体（沈殿物 A）からの E2 の回収率を図 2、 β -CD の回収率を図 3 に示す。沈殿物 A からの E2 の回収率はメタノール濃度に依存せず、約 5～8%であった。一方、 β -CD の回収率はメタノール濃度の増加に伴って約 81%から 87%（ β -CD : 10w/v%）に増加した。錯体としての E2 回収率にメタノール濃度の影響が小さかった理由として、①本実験で用いたメタノール濃度内では錯体を形成しないこと、②錯体は水に溶解した状態で存在すること、が考えられる。そこで、本実験で用いたメタノール濃

度の範囲で、E2/ β -CD 錯体が存在するかどうかについて検討した。その結果を図 4 に示す。錯体形成の可否は蛍光強度の変化で推定できるため¹⁾、E2 に比べて β -CD を添加した場合に蛍光強度が増大すれば、錯体が存在することを示す。図 4 からメタノール濃度 50%では錯体の存在量は少ないことがわかる。また、水溶性である β -CD はメタノール濃度 50%以上では溶解度が小さくなる。以上の結果から、E2/ β -CD 錯体の回収には、メタノール濃度 50%以下が望ましいことが示された。さらに、本研究においてメタノール濃度に係らず E2 の回収率は約 5~8%であったことから、E2/ β -CD 錯体の多くは沈殿物 A 中ではなく、むしろ溶液 (L₂) 中に溶解した状態で存在していたと考えられる。

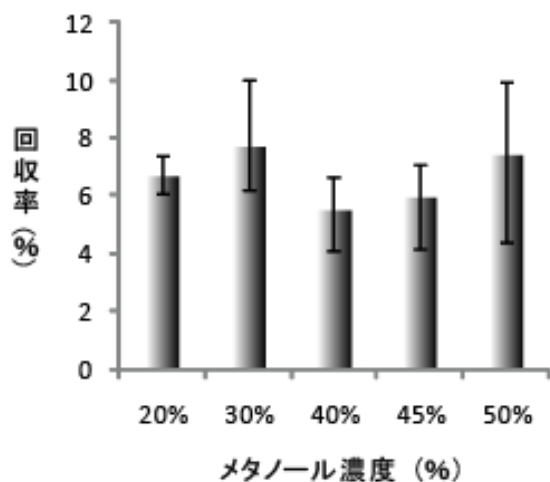


図 2 E2/ β -CD 錯体の回収率に及ぼすメタノール濃度の影響 (β -CD : 10 w/v%)

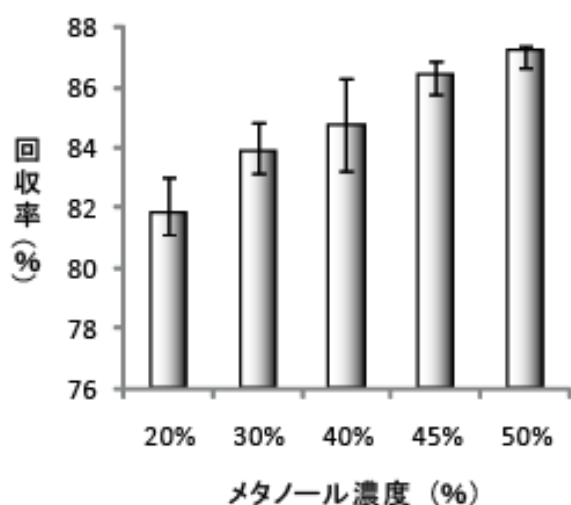


図 3 β -CD の回収率に及ぼすメタノール濃度の影響 (β -CD : 10 w/v%)

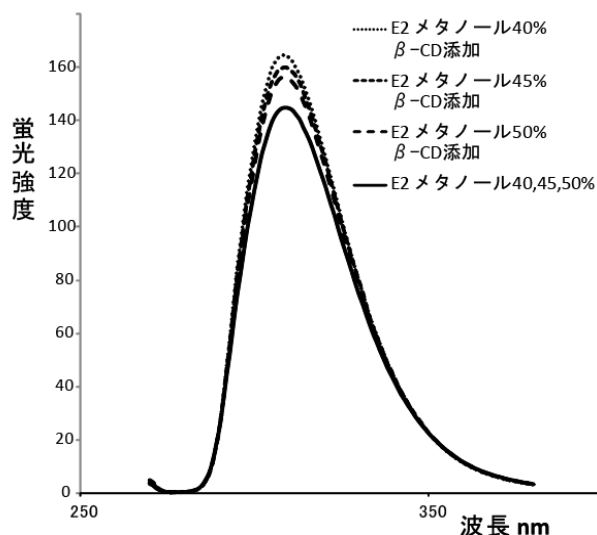


図 4 E2/ β -CD 錯体形成に及ぼすメタノール濃度の影響

(E2 : 10^{-4} mol/L、 β -CD : 10^{-4} mol/L、インキュベーション 2 時間、 λ_{ex} =265nm)

4. 結論

E2 は β -CD と錯体を形成することを利用して、水中から E2/ β -CD 錯体として回収し、さらに E2 と β -CD を解離させ別々に回収するための重要な要因の一つであるメタノール濃度について検討した。その結果、メタノール濃度は 50%で以下あることが望ましいことが示された。また、E2/ β -CD 錯体の水への溶解度は β -CD とほぼ同じであると考えられるため、錯体として沈殿回収する方法は、E2 が低い濃度の廃水への適用には困難である。E2 と同様にステロイド環を持つ食品中のコレステロールは β -CD によって効率的に回収されており³⁾、比較的高濃度で存在する場合は錯体として回収可能と考えられる。本研究は低濃度で行ったが、今後畜産廃水などの高濃度の水中からの回収の可能性について検討する予定である。

5. 参考文献

- 1) Kyoko Oishi, Keita Toyao, Yoshihiro Kawano (2008) Suppression of estrogenic activity of 17 β -estradiol by β -cyclodextrin, Chemosphere, 73, 1788-1792.
- 2) 小平琢磨、大橋俊平 (2007) シクロデキストリンを利用した機能性繊維の開発、愛知県工業系研究報告 NO.45, 54-58.
- 3) D.K.LEE, J.AHN, and H.S.KWAK (1999) Cholesterol removal from homogenized milk with β -cyclodextrin, J.of Dairy Sci. 82, 2327-2330.