

ビスフェノールAの β -シクロデキストリン 可溶化反応による蛍光分析

長沼 健 長谷川悟*

理科教育講座 (化学)

Fluorometric Determination of bisphenol A with β -cyclodextrin

Takeshi NAGANUMA and Satoru HASEGAWA

Department of Science Education (Chemistry), Aichi University of Education, Kariya 448-8542, Japan

Bisphenol A doubted as endocrine-disruptor. It does not dissolve easily to water, and fluorescence is weak in water. The cyclodextrin which is compound of ring structure, and dissolve to water. The cyclodextrin have internal holl that receive to bisphenol A, and the mixed solution have strog fluorescence. This reaction is peculiar for bisphenol A. When this reaction is used, trace amount of bisphenol A is detected. The detection sensitivity was ppb level, and the solved bisphenol A from baby gadgets.

1. はじめに

環境問題では新しく出現する化学物質についての情報が不足しており, 思ってもみない事柄が次々と表面化してきた。T. コルボーン他著「奪われし未来」¹⁾でとりあげられた水生動物のオスのメス化に端を発した環境ホルモンの問題が浮上したとき, 多くの化学物質の性質が洗い出された。その中でもポリカーボネートの原料でありプラスチック中に残留するビスフェノールAがその一つとして指摘された。ベンゼン環を有するビスフェノールAは蛍光物質でありその分析法を検討することにしたが, 蛍光スペクトルはシャープさに欠け直接では分析不能である。我々は今まで難溶性物質の界面活性剤による可溶化を用いた分析法を報告してきた²⁾が環状の糖は内部に空洞をもつ水溶性の物質である。一般に環境ホルモンはレセプターとアクセプターの関係にある酵素類似反応ととらえられているが, 化学反応の中では環状の糖であるシクロデキストリンもまた分子サイズのレセプターとして有用な試薬である。そこで, ビスフェノールAとシクロデキストリンとの反応を組合せた高感度な蛍光分析法を試みた。

本分析法では特別な分離を必要とせず, 反応の特異性による可溶化反応を利用したものであり操作は容易である。また, 反応の特異性についても構造的な特徴を示唆した。

*現在の所属先: 名古屋市立白山中学校

2. 試薬および機器

2.1 試薬

シクロデキストリン: α , β , γ -のシクロデキストリンを加熱により各0.1%水溶液を調整した。

ビスフェノールA: ビスフェノールAの0.1141 gをエタノールに溶解し, 1.0×10^{-3} mol/L エタノール溶液を調整した。実験ではこの溶液を適宜希釈して用いた。

他の試薬類については市販特級品を用いた。

2.2 機器

日立 F-4500形分光蛍光光度計で1 cm角型四面セルを使用, とくに断りがない限り以下の条件で設定した。

[測定条件] スキャンスピード: 1200 nm/min.

[光度条件] スリット (励起・蛍光共) 5.0 nm

レスポンス: 自動

3. 実験と結果

3.1 一般操作法

試料 (ビスフェノールA) の蛍光強度を測定した後, シクロデキストリン水溶液を加えて攪拌後, 最適波長で蛍光強度を測定する。

3.2 シクロデキストリンによるビスフェノールAの 蛍光性

1) ビスフェノールAの蛍光スペクトル

難水溶性のビスフェノールAのシクロデキストリン溶液の蛍光スペクトルとシクロデキストリンのみ（試薬ブランク）の蛍光スペクトルを図1に示した。

蛍光測定波長は、励起光277nm, 蛍光305nm で、シクロデキストリン溶液の試薬ブランク蛍光強度は無視できるものであった。

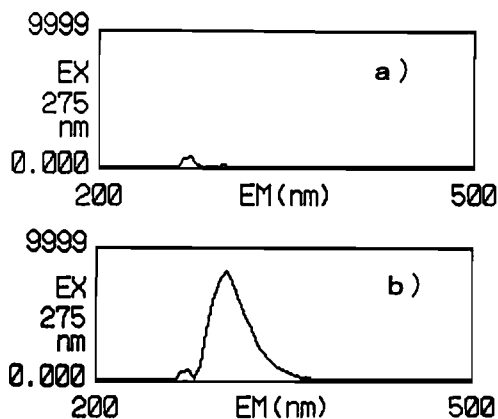


図1 ビスフェノールA—シクロデキストリン溶液の蛍光

(a)シクロデキストリン溶液

(b)ビスフェノールA—シクロデキストリン溶液

2) α , β , γ -タイプの違い

ビスフェノールAは水に難溶であるが、シクロデキストリン（以下CDと略す）の内部空洞に入ることによって包接化合物を形成し水に可溶化する。CDにはグルコース数の異なる α , β , γ -タイプがあるので、そのCD水溶液中のビスフェノールAの蛍光強度を比較することにした。

図2に各CD溶液の比較を示した。

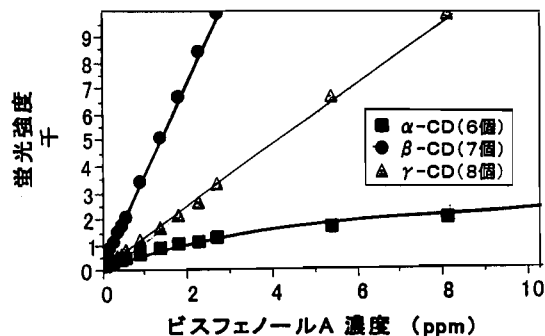


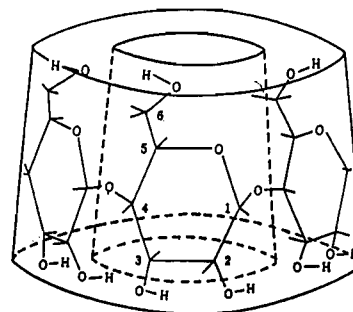
図2 ビスフェノールA測定におけるシクロデキストリン種の影響

図からわかるように β -CDが良いことがわかった。このことは図3に示したようなCDの構造で表1に示した空洞の大きさに差があり、ビスフェノールAとの反応で最も包接化合物を形成することに合致したと考えられる。

表1 各種シクロデキストリンのデータ³⁾

	グルコース数	空洞径(Å)	空洞内量(Å ³)
α タイプ	6	6	176
β タイプ	7	7~8	346
γ タイプ	8	9~10	510

一級水酸基側



二級水酸基側

図3 シクロデキストリンの構造

3) 溶媒による蛍光性

難水溶性のビスフェノールAを可溶化するものとして、有機溶媒（エタノール）、界面活性剤（ラウリル硫酸ナトリウム）と β -CDによる蛍光強度を比較したものを図4に示す。

エタノールと β -CDが大きく、CDの蛍光効果も可溶化の要素が大きいといえる。

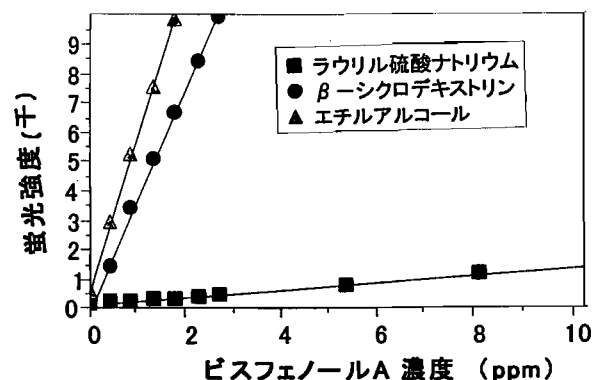


図4 可溶化溶媒による蛍光性への影響

4) 溶媒濃度による蛍光性への影響

上記2)で高感度であったエタノールと β -CDについて水溶液中での濃度の影響を検討するため蒸留水との各混合比による蛍光性を調べた。結果を図5に示した。エタノールの場合は溶解性が異なるために水との混合で蛍光強度に差が出ることがわかる。それに対し β -CDでは約10倍物質質量で対応できることがわかった。

3.3 β -シクロデキストリンによるビスフェノールAの分析法の開発

1) ビスフェノールAの類似化合物の蛍光性

ビスフェノールAは図6に示すように合成女性ホルモン（ジェチルスチルスチロール）と良く似た構造を有している。

ここでは、ビスフェノールAに類似した下記の物質を取り上げ、 β -CDによる可溶化—蛍光性の有無につ

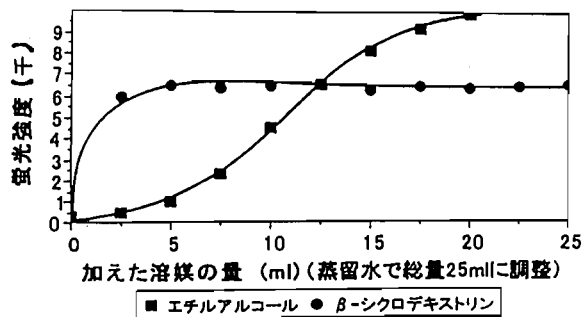
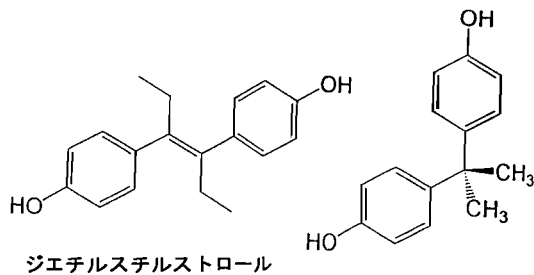


図5 水との混合濃度の影響



ジェチルスチルストロール

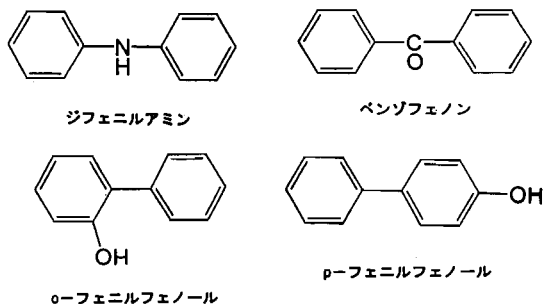
(合成エストロゲン)

ビスフェノールA

図6 ビスフェノールAと合成女性ホルモンの構造

いて検討した。構造式についての一部は図7、結果については図8に示した。

図8のように β -シクロデキストリン溶液中で飛躍的に蛍光性を増すものは、ビスフェノールAとp-tert-ブチルフェノールのみであり、 β -CDに包接されるかは不明であるが蛍光性の上からは明確な差が見られた。この2つについての構造上の特徴はフェノールに対するp-位の-C(CH₃)₃に依るものである。したがって、推測ではあるがCDとの包接化合物はフェノール部が内部に入り-C(CH₃)₃部がふたをする格好で安定化し蛍光性を示すと考えられる。他の蛍光性を示さ



o-フェニルフェノール

p-フェニルフェノール

図7 ビスフェノールA類似化合物

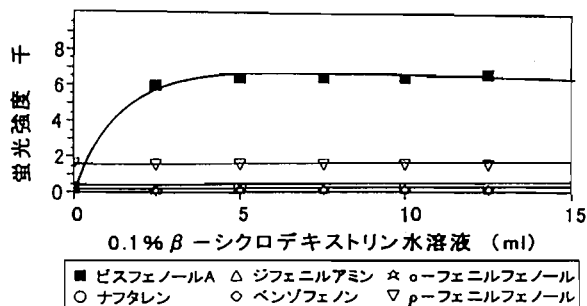


図8 β -シクロデキストリン中の蛍光性

なかったものはCD内への出入りが可能で安定化しなかったと考えられる。

2) 定量法

蛍光性上、ビスフェノールAは β -CDを用いて感度上昇を定量化する方法であるため、原子吸光法で良く行われる標準添加法を参考として定量法を検討した。操作法について以下に示す。

- ① β -CDを加えた試料溶液の蛍光強度を測定する。
- ② β -CDを加えていない試料溶液の蛍光強度を測定する。(試料溶液本来の蛍光強度：ブランク)
- ③ β -CDによって増加した試料溶液の蛍光強度測定値からの計算は標準添加法で引いた検量線(図8)の①-②=③の部分を負側に掃引した横軸の目盛(負は無視)。

図9にその内容を示した。

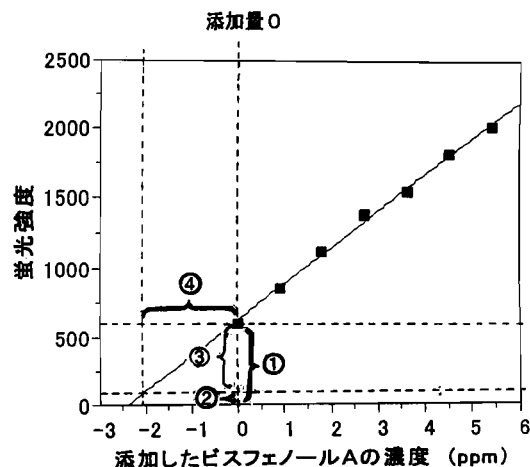


図9 標準添加法によるビスフェノールAの検量線

- ① β -CDを加えた試料溶液の蛍光強度
- ② β -CDを加えていない試料溶液の蛍光強度
- ③ β -CDによって増加した試料溶液の蛍光強度
- ④試料中のビスフェノールの濃度

3) 実試料の測定

プラスチックのポリカーボネートはビスフェノールAが原料であるため、ポリカーボネート製である哺乳びんや乳児用食器などから、ビスフェノールAが熱湯で溶け出すことが確認され問題となっている。

本実験では、新品の哺乳びんを用いて、本法を適用して分析を行なった。

分析法については下記のように行なった。

- ①新品の哺乳びんを煮沸した液、
- ②新品の哺乳びんに熱湯を注いだ液、
- ③一度煮沸した哺乳便に熱湯を注いだ液

〈分析手順〉

試水に 1×10^{-3} MビスフェノールA溶液、1%シクロデキストリン水溶液をそれぞれ適当な割合で加え総量50mlとする。励起277nm、蛍光305nmでの蛍光強度を測定し、標準添加の検量線を作成する。

上述の方法で濃度を計算する。
各分析値は表2のようであった。

表2 哺乳びんから溶出するビスフェノールA量

溶出ビスフェノールA濃度	
①煮沸した液	10~13 ppb
②熱湯注ぎ液	9~16 ppb
③煮沸後熱湯注ぎ液	0.5~3.6 ppb

この分析値は、文献値⁴⁾3.1~5.5ppb より若干大きな値をとり、さらに一度煮沸すると一桁含有量が下がることがわかった。

4. ま と め

難水溶性物質の可溶化反応には、親水基の付加反応、界面活性剤によるミセル化などがあるがこれらの反応は特異的ではないため選択性のある分析法にはならな

い。一方、シクロデキストリンは内部が空洞となっておりサイズ制御がなされるため選択性に優れている。

環境ホルモンの疑いのあるビスフェノールAは β -シクロデキストリンと包接化合物を形成し水溶媒に可溶化する。この反応は類似化合物で起すものは少なくビスフェノールAが分析可能となった。

この反応は分析的な有用性以外に包接化合物の研究としても興味があり、今後包接結合の詳細について検討が期待される。

(平成14年9月11日受理)

文 献

- 1) T. コルボーン他著「奪われし未来」(1997)
- 2) 長沼健, 伊奈紀幸, 木下美紀, 李捍東: 本誌47, 17 (1998)
- 3) 佐藤充克: 化学と教育, 49, 4 (2001)
- 4) 日本子孫基金「食品と暮らしの安全」102号