

キレート樹脂を用いた環境水中微量ビスマスイオンの前濃縮法の基礎的検討

小林 淳^{1,2)}, 池田啓一³⁾, 寺田 宙²⁾, 望月真理子¹⁾

¹⁾日本獣医生命科学大学獣医学部獣医保健看護学科

²⁾国立保健医療科学院生活環境研究部

³⁾北陸大学薬学部生体環境薬学講座

要約 環境水中の微量ビスマスイオンを測定するための前濃縮法について、誘導結合プラズマ質量分析法/発光分析法や原子吸光光度法で後分析することを踏まえて検討した。市販のキレート樹脂（GLサイエンスのMetaSEP AnaLig TE-05（以下、TE-05）と日立のNOBIAS CHELATE-PA1（以下、Nobias））を用い、酸性（pH6以下）での樹脂へのビスマスイオンの結合能について調べたところ、TE-05の方が保持容量は大きいですが、酸による溶出が定量的でないことが分かった。一方、pH3でNobiasはカルシウムなどの妨害を受けず、選択的・定量的に保持が起こるのに対し、TE-05は共存イオンにより阻害を受ける。Nobiasを充填したカラムは、形状・樹脂量に応じ溶出液量、通液速度に応じ定量的保持に影響を与え、充填樹脂量が同じであれば断面積が少なく長さが長い方が良好で、少ない液量で定量的な溶出が起きることが確認され、水道水への添加回収結果も良好であった。

キーワード：ビスマス，前濃縮，キレート樹脂

日獣生大研報 62, 76-81, 2013.

はじめに

ビスマス（Bi）は、周期律表的にヒ素やアンチモンと同じ15属元素で、また同じ第6周期の鉛や水銀に類似の性質および生物活性を有する¹⁾。昔から治療を目的として長期あるいは多量に摂取した場合に、腎毒性や神経毒性、歯肉炎などが起きることが知られている²⁾。しかしながら近年まで使用が限定的で、その次没食子酸塩や次サリチル酸塩、クエン酸塩などが主に胃潰瘍や皮膚病の薬として利用されるに過ぎず^{1,3,4)}、その環境放出が問題となることはなかった。現行では、水質汚濁に関わる規制は国内外で存在しない⁵⁾。しかし近年、化粧品、染料や鉛フリーはんだなどに利用され始め⁶⁾、その排出量が増してきたことから¹⁾、次世代の環境汚染物質と考えられるようになった。また鉛の代替品として、給水管材料に使用するための検討が行われているが^{6,7)}、環境中へのBiの微量漏出によるヒトの長期的な摂取による健康影響についてはあまり考慮されていない。

我々は先に上記のことを鑑み、現在の環境レベルを把握すべく、誘導結合プラズマ質量分析法（ICP-MS）を用いたpptレベルのBiの直接定量法について報告した⁷⁾。しかしながら現状ではまだ検出限界以下となる試料が大多数を占め⁸⁾、廃物処理スラグや水道水の一部の試料のみからし

かBiを検出することはできなかった。

そこで、本研究ではさらに前濃縮法について検討を試みることにした。一般に前濃縮法には、溶媒（液—液）抽出^{9,10)}や固相（液—固）抽出法^{11,12)}などがある。前濃縮後には水溶液とし、分光光度法や蛍光光度法、原子吸光光度法（AAS）、ICP-MSなどにより測定が行われる。また最近ではろ紙などの固相に保持したままの状態では着色や蛍光を検出することにより定量する方法も考えられているが¹³⁾、今回は先に開発したICP-MSによる方法をそのまま適用すべく、高い濃縮倍率が期待でき、濃縮後に酸試料溶液（一般的なICP-MSの試料形態）の調製が容易な固相抽出法に着目した。中でもキレート樹脂を用いた方法が夾雑物質の影響を受けにくく、目的のイオンだけを選択的に濃縮できると考えたため、定量性が確立しており、測定が迅速に行えるAASで基礎的検討を行った。今回の結果より、環境水中の微量ビスマス濃縮に有用な知見を得ることができたので報告する。

方 法

試薬

今回、市販の2種のキレート樹脂を検討に用いた。1つはGLサイエンス（東京）より市販されているBi等に比較的高選択的であるとされるMetaSEP AnaLig TE-05（以下、

TE-05), もう1つは多種のイオンの前処理に用いることができ、海水からの重金属イオンの回収などの報告¹⁴⁾もある日立(茨城)のNOBIAS CHELATE-PA1(以下, Nobias)である。Nobiasについてはカラムに充填されたもののみでバルクのものが入手できなかったため、必要に応じて中の樹脂を取り出して実験に供した。金属標準溶液としては、和光純薬(大阪)製のAAS用とSpex(Metuchen, NJ, USA)社のICP用標準液を使用した。その他の試薬は、市販特級品を使用した。試薬調製等に用いた水は、メルクミリポア(Billerica, MA, USA)製のElix/MilliQ Elementにより、比抵抗値18 MΩ・cm以上に精製した超純水を使用した。

装置

金属分析は、パーキンエルマー(Waltham, MA, USA)製原子吸光度計AAAnalyst800/200を使用して行ない、濃度レベルに応じてフレームあるいは黒鉛炉モードで測定した。フレーム測定では、測定波長223.1nm, 空気-アセチレンフレームで測定を行った。一方、黒鉛炉モードでは、専用の黒鉛炉を使用し、乾燥60-160℃(40秒), 灰化500℃(30秒), 原子化2700℃(10秒), クリーニング3000℃(3秒)の条件で行った。またカラム法における送液には、アトー(東京)製のペリスタポンプSJ-1211及びシリコンチューブを使用した。

バッチ法

本法の条件検討は、まず初めにバッチ法で行い、決定したpH等の条件をカラム法に適用した。最終的なBiの濃縮は、操作性や濃縮効率の面から、一般にカラム法が望ましい。バッチ法では、15 mL容の試験管に樹脂約0.01 gを加え、さらに5mLの緩衝液と金属溶液の混液または酸を5 mL添加し、試験管に蓋をして約8時間室温で振盪することにより、金属イオンの保持あるいは溶出を行った。上澄みに残存する金属量(濃度 $\mu\text{g/mL}$ ×液量5mL)から保持量(%、 $\{\text{添加量}-\text{上澄み残存量}\}/\text{添加量} \times 100$)や溶出量(%、 $\{\text{上澄み残存量}/\text{保持量}\} \times 100$)を算出した。また定量的な溶出の判断は、保持された割合の90%以上が溶出されていることを基準とした。

カラム法

カラム法は、駒型のポリエチレン製カラムの前後にシリコンチューブを接続し、ペリスタポンプで送液することにより行った。日立のNobiasはもともと内容量・カラム形状の異なるもの3種類(カラムL:キレート樹脂600 mg充填, 1.3×1.4 cm ϕ ;カラムM:300 mg充填, 0.6×1.4 cm ϕ ;カラムS:190 mg充填, 1.0×1.1 cm ϕ)が市販されているため、それらを用いて検討を行った。

結果および考察

バッチ法によるBiの樹脂への結合

本研究にて検討したキレート樹脂2つ, TE-05とNobiasに対するBiの結合能についての結果をFig.1に示した。結合させる条件として、主にpHを変更し、Biイオンのみ単

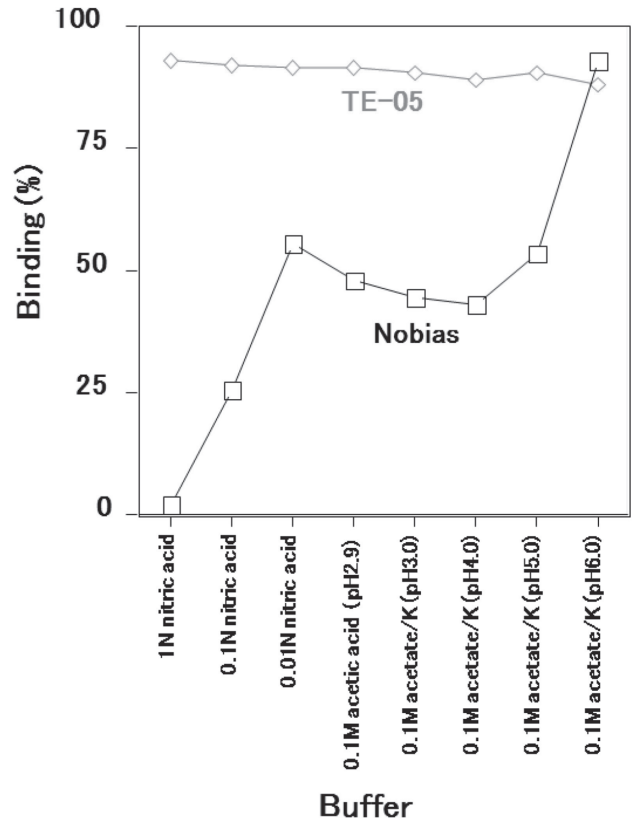


Fig. 1. Binding of bismuth ion on the chelating resins at several pHs

Reactant : 0.01 g resin, 4.5 mL buffer, 10 ppm Bi of 0.5 mL.

Shaking time : 8 h.

Binding rate was calculated from the added quantity in supernatant fluid.

The quantity in supernatant fluid was calculated by the concentration measured by AAS and the volume (5 mL).

n=3.

独で反応させたとき、TE-05では1 N硝酸酸性からpH6酢酸緩衝液まで定量的にBiイオンの結合が確認された。10倍過剰といった過酷な条件でのBiイオンは負荷していないが、結合容量は計算上24 $\mu\text{eq/g}$ に相当した。一方、NobiasではpH6の条件では定量的に結合がみられたが、pH6未満では結合量が低く、特に1 N硝酸ではほぼ結合は認められなかった。

カラム法への適用を考え、また前処理後にICP-MSやAASで測定することを考慮すると、中性から弱酸性の条件下でキレート樹脂に定量的結合が行われ、1N硝酸でBiの定量的解離がみられる方がいいと思われる、その点からはどちらの樹脂も満足のいくものではなかった。ただしカラム法の場合には、より効率的に金属イオンと樹脂配位子とが接触し反応が行われると思われる、結合・解離動態がバッチ法とは異なることも考えられるので、次に続けて解離条

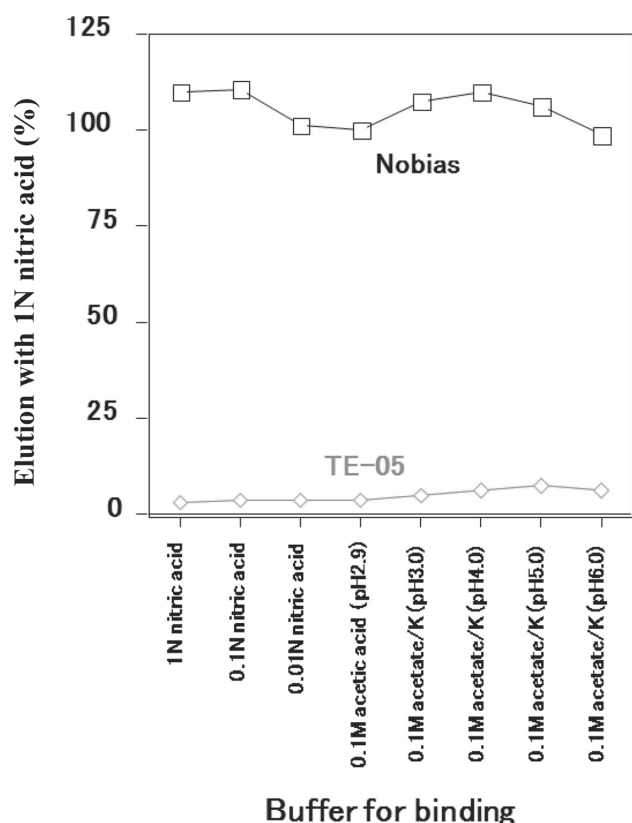


Fig. 2. Elution of bismuth ion from the chelating resins
 Reactant : 0.01 g resin (already Bi bound), 5 mL of 1 N nitric acid.
 Shaking time : 8 h.
 Elution rate was calculated from the binding and the quality of supernatant fluid.
 The quantity of supernatant fluid was calculated by the concentration measured by AAS and volume (5 mL).
 n=3.

件について検討した。

バッチ法によるBiの樹脂からの解離

本樹脂に結合したBiの解離条件に関する結果をFig.2に示した。今回は分析法を考慮し、1 N硝酸のみ行った。Nobiasでは結合したBiは定量的に解離したが、TE-05ではほとんど解離が認められなかった。解離しないBiはEDTAなどのキレート剤で剥離できるとも考えられたが、有機物含量の増加はICP-MS等での測定における妨害につながるとも思われたため、今回さらなる検討は行わなかった。

バッチ法による金属混合溶液中のBiの結合

Biと他の金属イオンが共存する場合に、Biの樹脂への結合に影響があるかを調べた。10 ppm Biと同レベルの銅、カルシウム、ナトリウムを共存させた場合の結果をFig.3 (a) に示した。Nobiasは、検討した1 N硝酸～pH6の範囲中で、0.01 N硝酸～pH4で定量的な結合が認められた。カルシウムやナトリウムの結合は認められなかったが、銅は

pH4以上で結合が認められ、pH5-6では定量的に結合していた。このことから、Biの中性付近での結合は、高濃度の銅によって阻害されると考えられた。TE-05では、BiはすべてのpH範囲において定量的な結合が認められた。ただし銅は0.1 N硝酸酸性より、カルシウムはpH5以上で結合が認められ、これらイオンが分析の干渉となる場合には問題となると思われた。

他方、1 ppm Biよりも100倍高い濃度の銅、カルシウム、ナトリウムを共存させた時のBiの結合を調べたところ、Nobiasでは、カルシウムやナトリウムの結合は認められないが、銅がpHの上昇と共に結合が認められ、それによりBiの結合が阻害を受ける様子が観察された。Biの結合割合が高いのは、0.01 N硝酸～pH3の範囲であった。TE-05では、銅やカルシウムの結合により阻害を受け、pH4以上でBi結合力が低下した。

これらの結果を総合して考えると、条件により選択的な結合が得られ、定量的なBiの濃縮に適するのはNobiasの方である。ただしNobiasでは結合容量が低いために、高濃度に他の金属が存在する場合には阻害を受けやすい。TE-05はBiに選択性が高いキレート樹脂とのことであったが、結合力、結合容量は高いものの、酸による溶出が困難であり、高濃度の共存イオンがあると結合の阻害を受け易いのはNobiasと同じであった。以下主にNobiasを用いて、カラム法によりさらに検討を行うことにした。また結合の最適pHを3と定め、酢酸緩衝液により試料調製することにした。

カラム法によるBiの保持に及ぼす因子

Fig.4には典型的な溶出プロファイルを示した。いずれもpH3酢酸緩衝液でpH調製した10 mLの1 ppm Biを樹脂に保持させてから、1 N硝酸で溶出を行った。流速は、保持、溶出とも1 mL/minとした。カラム形状における溶出の様子を比較すると、いずれも定量的な溶出が認められたが (Table 1)、カラムが大きいほど溶出に要する1 N硝酸の量が多くなった (Fig.4)。これはおそらくBiの結合した範囲 (容積) が広く、Bi結合部位で硝酸の接触効率が低いと思われる。図には示していないが、流速を上げると保持容量が減少する傾向が認められているので、あらかじめBiがどの濃度レベル含まれるかや後分析した測定結果より濃縮に供する試料量の妥当性を考えなくてはならないと思われる。

TE-05を充填したカラムでは、定量的な保持は認められるものの、ほとんど溶出が認められなかった (図には示さない)、それ以上の検討は行わなかった。樹脂そのものをファーンエスAASなどの測定系に直接導入することができれば、TE-05でも高感度測定ができる可能性はあると思われるが、樹脂使用量を減らして全量を測定に供するか、正確にある割合を導入することは困難で、今後の課題となる。

水道水からのBiの回収

水道水を用いてバッチ法によりBiの保持、解離について検討したところ、定量的な結合、解離が認められた (Table

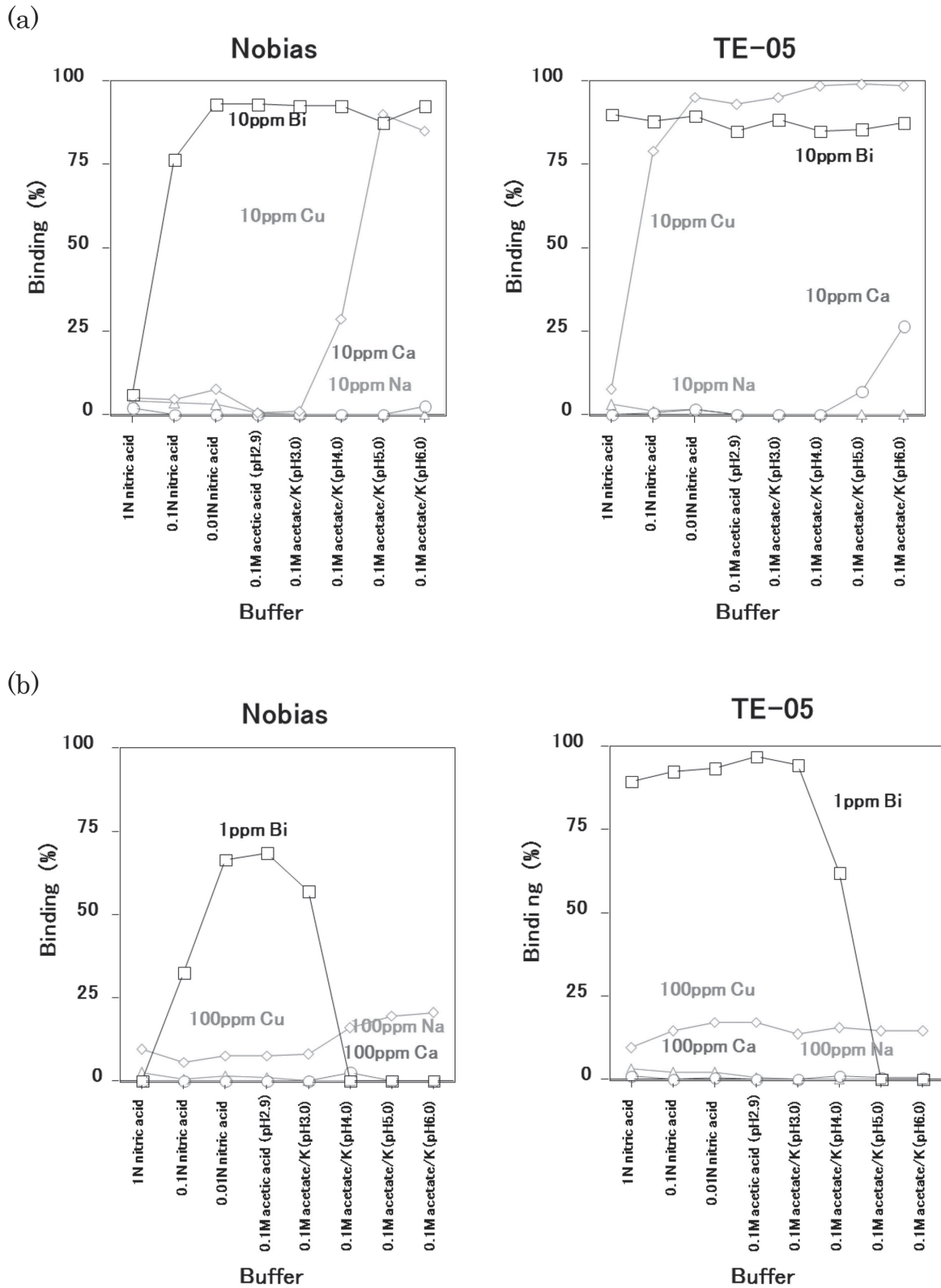


Fig. 3. Binding of bismuth and other ions on the chelating resins
 Reactant : 0.01 g resin, 4.5 mL buffer, 0.5mL metal solution.
 Metal solution : (a) 10 ppm Bi, 10 ppm Cu, 10 ppm Ca, 10 ppm Na ;
 (b) 1 ppm Bi, 100 ppm Cu, 100 ppm Ca, 100 ppm Na.
 The other conditions were the same in Fig. 1.

2)。これをNobiasを充填した小カラムを用いて行くと、定量的な保持・溶出が認められた（試料：10ppb Bi×1L, 保持時の流速：10 mL/min, 濃縮倍率：100倍, 回収率102.3%）。ただし未添加の場合には感度以下であることから、さらに測定系をICP-MSに変更するなど今後の検討が必要と思われる。

ま と め

今回、Biイオン前濃縮法について、市販の2種のキレート樹脂を用いて検討した。検討した樹脂の中で、Biに高選

択的であると思われたTE-05は保持容量は高いものの、定量的な溶出が困難であり、AASやICP-OES/MSを後分析に用いるには不向きであった。Nobiasは多元素同時濃縮可能な樹脂として市販されているが、反応条件を選択することによりBiのみをほぼ選択的に濃縮可能であり、カラム法でも良好な結果が得られた。今後、水道水によく含まれる鉄やマンガン、海水中に多く含まれる塩化物イオンなどの干渉についての追加検討と未添加の実環境試料からの回収をAASよりも高感度な分析機器であるICP-MSを用いて行い、汚染が進行する前のBiの環境レベルの把握に努めたいと考えている。

参 考 文 献

- 1) 坂井 公 (2004). ビスマス. 日本臨床, **62** (Suppl 12), 344-346.
- 2) 伊藤正男・井村裕夫・高久史磨 編 (2009). 医学大辞典. 医学書院, 東京, p.1667.
- 3) 野牛 弘・林 修 (1985). ビスマス. 日本臨床, **43**, 592-594.
- 4) SLIKKERVEER, A., de WOLFF F. A. (1989). Pharmacokinetics and toxicity of bismuth compounds. *Med. Toxicol. Adverse Drug Exp.*, **4**, 303-323.
- 5) 千葉百子・篠原厚子・内藤久士 (2004). ビスマスの生体影響—その蓄積・肝・腎・骨機能への影響を中心に—. 順天堂医学, **50**, 458.
- 6) Mineral Tolerance of Domestic Animals. Bismuth (1980). National Academy of Sciences, Washington, D. C., p.60-70.
- 7) 小林 淳・寺田 宙・杉山英男・松川岳久・千葉百子・横山和仁 (2011). ICP-MSによる環境試料中のビスマス定量とビスマス化合物の細胞毒性に関する基礎的検討. 分析化学, **60**, 357-362.
- 8) 大沼章子・池田清栄・富田伴一 (2003). 誘導結合プラズマ質量分析による環境水の多元素一斉分析について. 愛知衛研所報, **53**, 51-63.
- 9) HASEGAWA, H., SOHRIN, Y., MATSUI, M., HOJO, M., KAWASHIMA, M. (1994). Speciation of arsenic in natural waters by solvent extraction and hydride generation atomic absorption spectrometry. *Anal. Chem.*, **66**, 3247-3252.

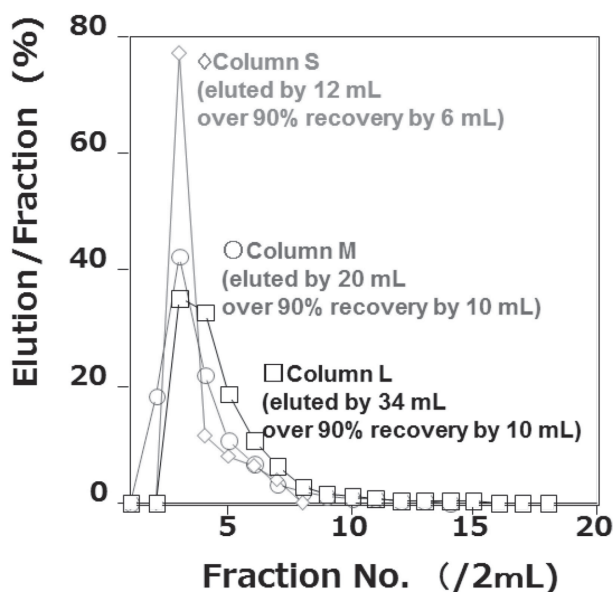


Fig. 4. Typical elution profiles of bismuth ion from some Nobias columns

Column L : 600mg resin, 1.3 X 1.4 cm ϕ ; Column M : 300 mg resin, 0.6 X 1.4 cm ϕ ; Column S : 190 mg resin, 1.0 X 1.1 cm ϕ .

Sample : 5mL of mixed solution included 10 ppm bismuth of 5 mL and pH 3 acetate buffer.

The following solution pass through each column in this order : pH 3 buffer (10 mL), sample (5 mL), water (10 mL), eluent (1 N nitric acid).

This figure shows only the process which is letting eluent pass.

Table 1. Some conditions for retention of bismuth on the Nobias columns

Condition	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Bismuth conc. (ppm)	10	10	10	1	1	10	0.1	0.01	0.005
Sample vol. (mL)	50	50	50	50	50	50	50	500	1000
Flow rate (mL/min)	1.0	1.0	1.0	1.0	12.5	12.5	12.5	12.5	12.5
Column size	L	S	M	S	S	S	S	S	S
Recovery (%)	112.9	115.8	110.0	108.2	112.4	90.4	116.0	106.3	104.7

Columns size and the other conditions were the same in Fig. 4.

- 10) 阿久津哲也・清水徳夫・上原信夫 (2009). in situ抽出剤生成法を利用するマイクロ溶媒抽出法によるクロム(Ⅲ)とクロム(Ⅵ)の分別定量. 分析化学, **58**, 693-698.
- 11) SHAO, C., MATSUOKA, S., MIYAZAKI, Y., YOSHIMURA, K. (2002). Anion exchanger as a reaction/separation medium-absorptiometric determination of trace amounts of boron in waters by on-line complexation with chromotropic acid presorbed on the anion-exchange column. *Analyst*, **127**, 1614-1620.
- 12) NARIN, I., KARS, A., SOYLAK, M (2008). A novel solid phase extraction procedure on Amberlite XAD-1180 for speciation of Cr (III), Cr (VI) and total chromium in environmental and pharmaceutical samples. *J. Hazard. Mater.*, **150**, 453-458.
- 13) 梶原健寛・前馬恵美子・加賀谷重浩・井上嘉則・上茶谷 若・梁井英之・斉藤 満・遠田浩司 (2011). 鉄(Ⅲ)担持カルボキシメチル化ペンタエチレンヘキサミン型キレート樹脂を用いるヒ素の固相抽出分離. 分析化学, **60**, 629-634.
- 14) 平良直秀・植田悦史・橋本東久・島袋珠寧 (2006). 海水等における微量金属分析技術の開発. 沖縄県工業技術センター研究報告書, **8**, 57-63.

Basic Study for Preconcentration of Trace Bismuth in Environmental Waters by Using Chelating Resin

Jun KOBAYASHI^{1,2)}, Keiichi IKEDA³⁾, Hiroshi TERADA²⁾, Mariko MOCHIZUKI¹⁾

¹⁾School of Veterinary Nursing and Technology, Faculty of Veterinary Medicine, Nippon Veterinary and Life Science University

²⁾Department of Environmental Health, National Institute of Public Health

³⁾Department of Bioenvironmental Pharmaceutical Sciences, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Hokuriku University

Abstract

Bismuth (Bi) is known as a lead-replacing material, but there is concern that a trace of Bi leaks to environmental water and chronic intake of Bi in the water may affect human health. Preconcentration method for measuring Bi in environmental waters was investigated. It was considered that inductively coupled plasma-mass spectrometry/atomic emission spectrometry and atomic absorption spectrometry were used for post-analysis. In this research, two commercial chelate resins, MetaSEP AnaLig TE-05 of GL sciences (TE-05) and NOBIAS CHELATE-PA1 of Hitachi (Nobias) were checked. When it investigates about the resin capacity of Bi below pH 6, TE-05 is as larger as more than 24 $\mu\text{eq/g}$. However, the elution by 1 N nitric acid is not so quantitative as less than 10%. On the other hand, while Bi binding by Nobias takes place selectively by pH 3, TE-05 receives much prevention by coexistence ions. The column filled up with Nobias affects quantitative binding and elution volume according to the column form and the amount of resin. The recovery test of tap water had good recovery (102.3%) when 10 ppb Bi and Nobias column were used.

Key words : bismuth, preconcentration, chelating resin, environmental water

Bull. Nippon Vet. Life Sci. Univ., **62**, 76-81, 2013.