

発表番号 27

含塩食品中の微量元素イオンの分光学的研究

助成研究者 藤田 英夫(京都大学総合人間学部)

(現在・若狭湾エネルギー研究センター)

共同研究者 大矢 博昭(山形県・生物ラジカル研究所)

田嶋 邦彦(京都工芸繊維大学繊維学部)

福井 聡平(京都工芸繊維大学繊維学部)

田中 悟(堀場製作所)

今回はマンガン二価イオン(Mn^{2+})に限定して、食品中の微量元素イオン量を電子スピン共鳴法(E S R)による固相(粉体)状態での定量分析法を開発し、計測した。E S Rは無浸襲・非破壊法で高感度分析機器であり、イオン量が鋭敏・簡便にして正確なデータが得られるメリットがある。本報では食塩(N a C l)をベースとして固相状態で、微量元素イオン・ Mn^{2+} 量を計測したので報告する。

N a C l中の不純物を硫化物として除去し、ベース試薬として用いた。次に試料をN a C lで薄めて、十分に乾燥し、粒径を揃え、精度の良いNMR試料管に乾燥試料0.8gを入れた。続けて、一定条件下で、E S R測定をした。標準試料で検量線を作成した。検体試料を上記と同じ条件下で測定し、E S R吸収信号の積分値(強度)を見積もった。これをもとに検量線から、 Mn^{2+} 量を決定した。

X-バンドでのE S Rの Mn^{2+} の信号はN a C l中では歪んだスペクトルとなるが、積分値では $I = 5/2$ の基本パターンであった。3本目の吸収線に着目して、統一的なデータを取った。いくつかの代表的な食品について実験結果をまとめた。とりわけ、宇治茶の抹茶とハイビスカス茶が195.00、216.00 $\mu g/g$ と高い数値を示した。このことは $Mn-SOD$ (活性酸素消去酵素)と関連させて考察すれば興味あることである。今回は Mn^{2+} の定量に限定したが、ベースの塩を選定すれば多核種のイオン量の固相状態での同様の分析も可能になるものと期待される。

21

助成番号 0252

含塩食品中の微量元素イオンの分光学的研究

助成研究者 藤田 英夫(京都大学総合人間学部)

(現在; 姫路工業大学環境人間学部)

共同研究者 大矢 博昭(山形県・生物ラジカル研究所)

田嶋 邦彦(京都工芸繊維大学繊維学部)

福井 聡平(京都工芸繊維大学繊維学部)

田中 悟(堀場製作所)

渡邊 敏明(姫路工業大学環境人間学部)

1. 緒言

含塩食品中の微量元素イオンを分光学の立場から、興味ある問題について検討を加えてきた¹⁾。ここでは様々な要因の中で最も応用性の期待できる分析化学へのアプローチを試みた。X-バンド電子スピン共鳴法(E SR)は汎用性科学機器であり²⁾、効率的なデータが得られる可能性がある。当初はW-バンドも視野に入れたが、ヘリウムの使用量だけで研究費が不足となるので今後の課題とした。

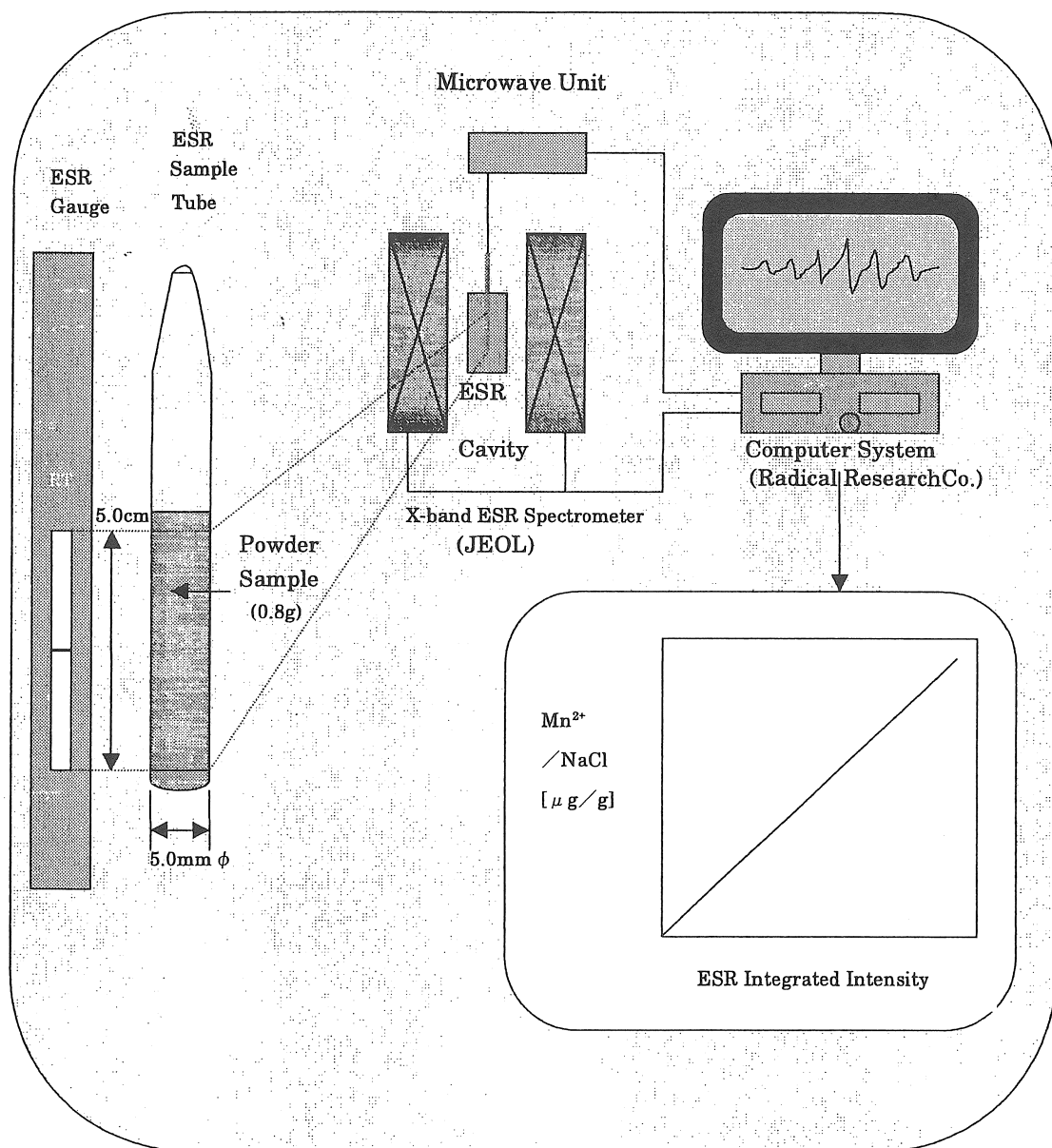
今回は食塩(N a C l)を含む食品中の微量元素イオン量を、E SRによる固相〔粉体〕状態での定量分析法の確立を検討した。これにあたり、通常よく使用される誘導結合プラズマ発光分析(I C P-A E S)³⁾でのマンガン全量(M n)との相関性についても、事前に実験を試みた。便宜上、マンガン二価イオン(M n²⁺)に限定して実験し、所期の成果を得たので報告する。

2. 実験方法

E SR装置は、京都工芸繊維大学繊維学部応用生物学科の田嶋邦彦研究室の日本電子製、J E S-T E 3 0 0型を使用し、ラジカルリサーチ製のコンピュータ・データ制御システムを併用した。I C P-A E Sは堀場製作所製、U L T I M A 2 C型を使用した。

本研究で構想している固相E SR定量分析法の概念を示すと、Scheme 1の通りであ

る。ここで、実際の実験手順を Table 1 に示した。



Scheme 1. ESR Quantitative Analysis System in the Solid State

Table 1. The Method for ESR Quantitative Analysis of Mn^{2+} Weights

〔手 順〕

1. 試料採取 (0.1g)。
2. 塩化ナトリウム(食塩, NaCl)は KOH と $(NH_4)_2S$ にて還流し、硫化物として不純物(微量元素等)を除去。
3. 試料を NaCl で薄める (NaCl 3.0g で飽和水溶液とし、30分程度加熱)。
4. 水分を除去し、 $140^\circ C$ で 12 時間乾燥。乳鉢にて粒径を揃える。
5. 精度の良い 5mm ϕ の石英製 NMR 試料管に上記の乾燥試料 0.8g を入れる。
6. 一定条件下で、ESR 測定(ゲージを使い、計測範囲内の定位置に試料管をセット)。
 - ① 標準検量用試料で、その日の検量線を作成しておく。
 - ② 検体試料を上記と同じ条件で測定し、ESR 吸収信号の積分値を決める。
 - ③ ESR 吸収信号の積分値(強度)から、 Mn^{2+} 量を決定する。

3. ICP-AESでのMn全量と Mn^{2+} 量との関係

本実験のうち一番時間を要したのは、高純度の NaCl を得ることであった。原子吸光分析用試薬(99.99%)でも、 Mn^{2+} が強く出現し、高純度水で何度再結晶しても変化がなく、結局、硫化アンモニウム使用による硫化マンガン処理法で、ESR的に高純度の NaCl が得られた。その後、微量の Mn^{2+} を含ませた標準サンプルを作った。ICP-AESによるMn全量と Mn^{2+} 量との比例関係は Fig. 1 に示した。

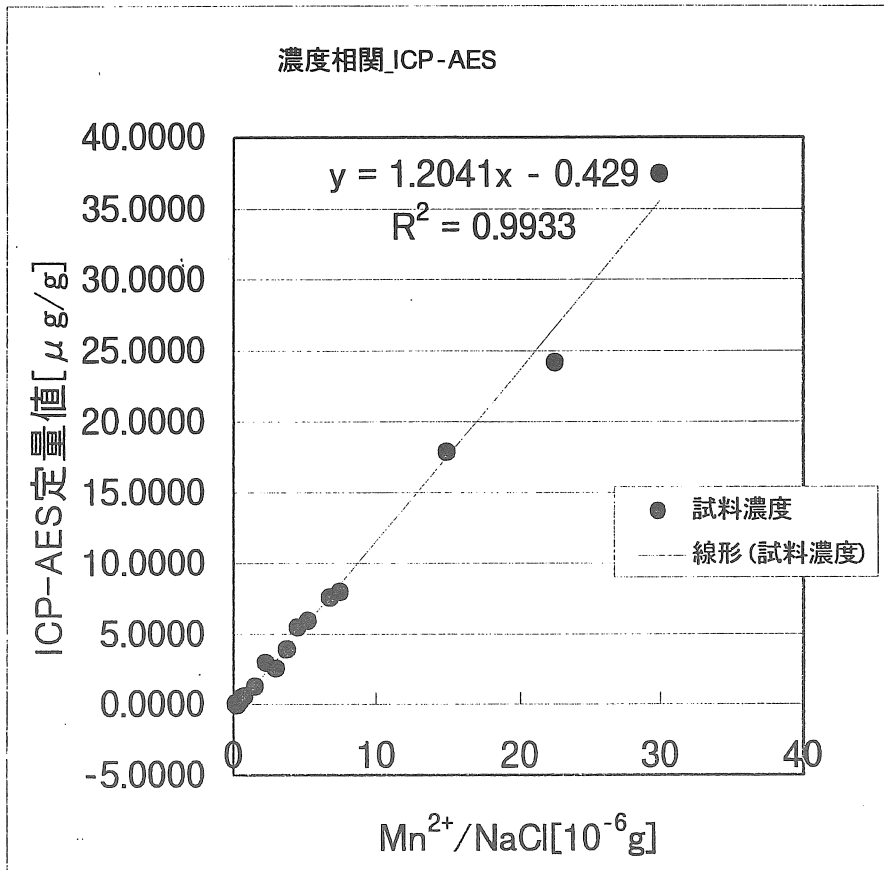


Fig. 1. Relationship between Mn Weights and Mn^{2+} Weights

4. Mn^{2+} 量の検量線

次に、実際に固相ESR定量分析法を実践した。石英製の十分に品質管理された均一なNMR試料管を購入し、前記の標準試料のESR測定を行った。NaCl中の Mn^{2+} のESRスペクトルはFig. 2のように特殊なパターンを示した。しかし、基本的には積分形では等価な6本の吸収、 $I = 5/2$ による Mn^{2+} と判っているので¹⁾、3本目の吸収強度を見積もり、データを集めた。その結果は、Fig. 3にプロットした。固相ESR定量分析法で注意すべきは、固体の乾燥を一定基準に整えることと、測定量、粒径、試料管の基準化を守ること、もちろん、ESR測定条件は厳密に一定のままであった。

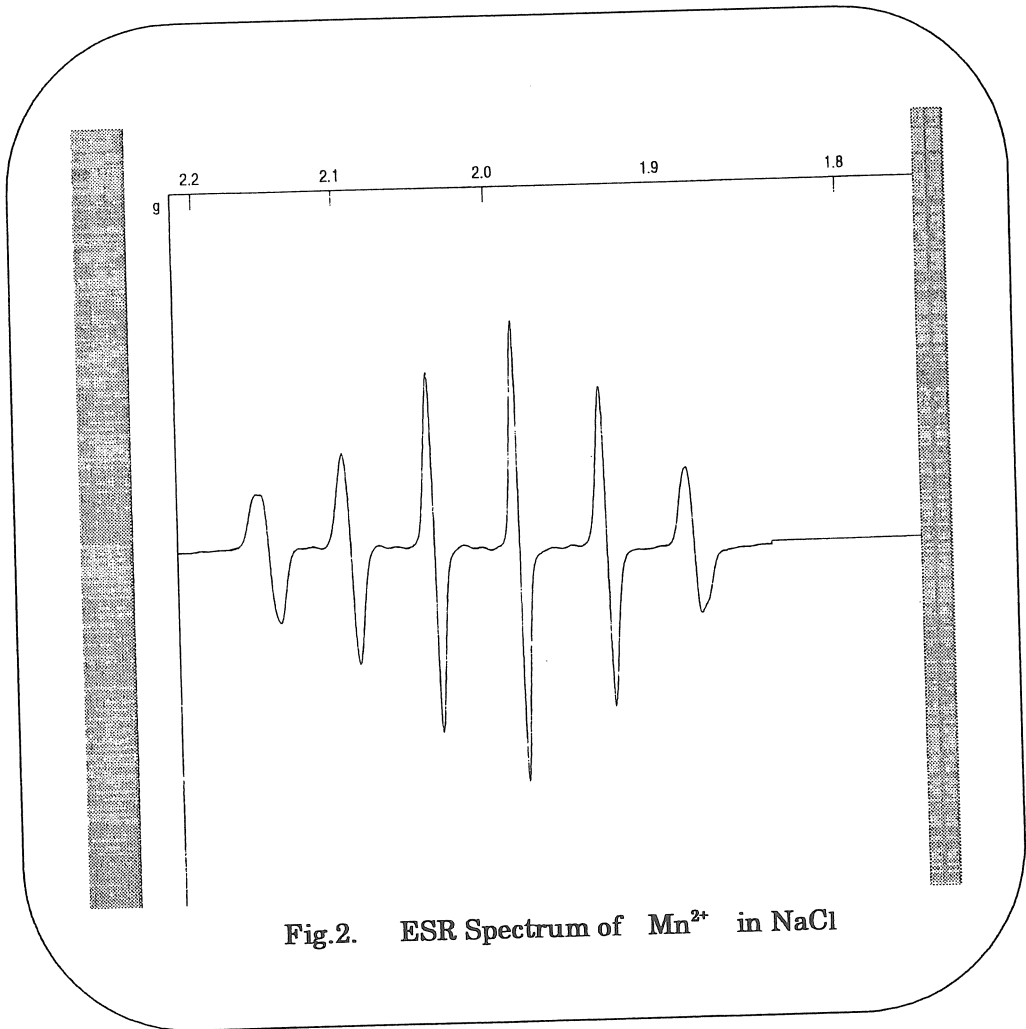


Fig.2. ESR Spectrum of Mn^{2+} in NaCl

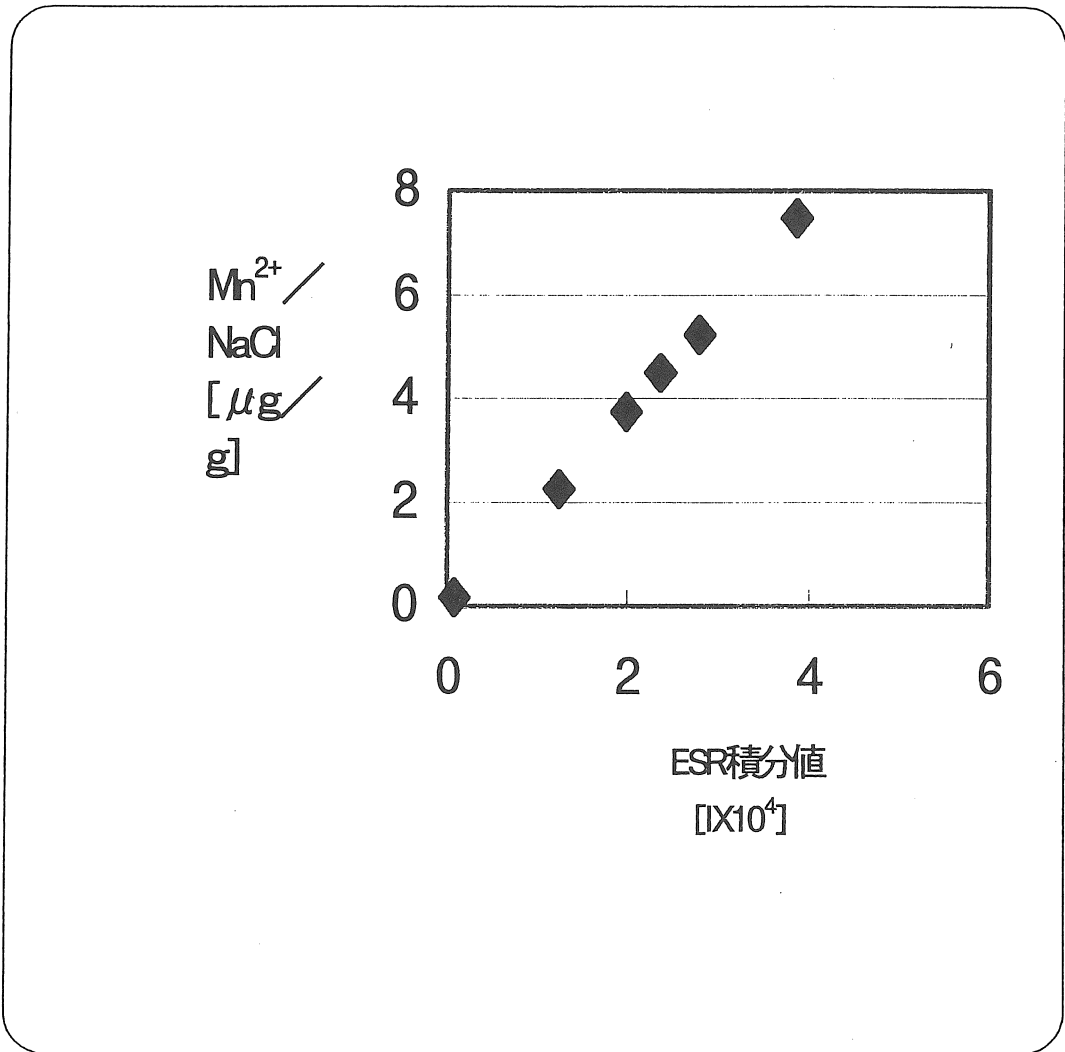


Fig. 3. Working Curve of Mn²⁺ Weights by ESR Method

Table 2. ESR Quantitative Analysis of Mn²⁺ Weights in the Solid-Foods

	Mn ²⁺ Weights
食塩・海からの贈り物(塩業センター)	0.16 μg / g
NaCl、和光純薬・質量分析用	0.20 μg / g
珠洲の苦汁塩	0.38 μg / g
珠洲塩(一番塩)	0.29 μg / g
玄塩(沖縄産)	0.20 μg / g
モンゴル岩塩	0.70 μg / g
宇治の抹茶・初音	195.00 μg / g
宇治の抹茶・初音(濾液)	90.00 μg / g
ハイビスカス(花びらとガク)	216.00 μg / g
ハイビスカス(花びらとガク、濾液)	113.00 μg / g
ハイビスカス茶(沖縄産)	50.75 μg / g
羅漢果(肉)	61.40 μg / g
羅漢果(肉、濾液)	16.50 μg / g
大麦若葉	47.87 μg / g
大麦若葉(濾液)	36.60 μg / g
明日菜	15.87 μg / g
明日菜(濾液)	6.30 μg / g
丹後ホンダワラ	45.35 μg / g
能登のアオサ	27.50 μg / g
むかぜ海藻	7.80 μg / g
褐色ふのり	7.60 μg / g
輪島七島沖ワカメ	1.20 μg / g
桑茶	2.32 μg / g
穂青紫蘇	2.00 μg / g

5. Mn^{2+} 量の定量分析結果と議論

今回はESR定量分析法に絞って、検証してきた。その結果はTable 2、3の通りであった。Table 2では家庭用食塩は概ね Mn^{2+} 量は $0.16 \mu g/g$ であり、天然塩・玄塩は $0.20 \mu g/g$ であり、モンゴル岩塩は $0.70 \mu g/g$ であった。宇治の抹茶は $195.00 \mu g/g$ と多かったが、これに匹敵したのはハイビスカス茶(赤色、顎を含む)の $216.00 \mu g/g$ であった。健康食品やMn-SOD〔活性酸素消去酵素〕様食品としての素材性が窺えた。確かに、Fig. 4に示すようにハイビスカス茶のESRスペクトルは、日本茶のパターンとの類似性があった¹⁾。Fig. 4では $g=4.2$ 近傍に Fe^{3+} の非ヘム鉄の信号が見られた。その他、漢方薬、健康茶、海藻などの Mn^{2+} 量を知ることができた。

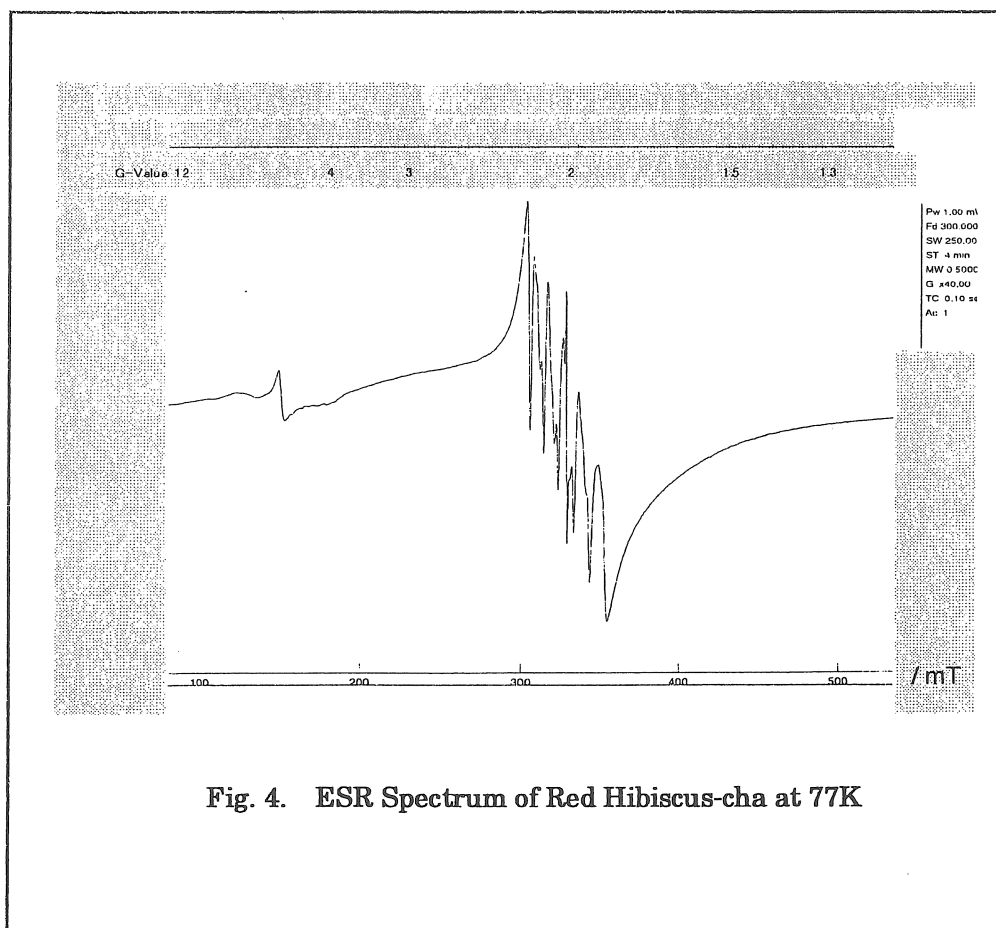


Fig. 4. ESR Spectrum of Red Hibiscus-cha at 77K

表 3 は飲料物について、代表的なものを測定した。ペットボトルのお茶は各メーカーとも似た値を示した。ビールでは、麦を原料にしているS社が 82.00 n g / g と多かった。時流の発泡酒は 1.60 n g / g と薄かった。人尿は予備データであり、Mn²⁺は即座に尿として排出されるとは限らず、今後の課題である。

Table 3. ESR Quantitative Analysis of Mn²⁺ Weights in the Drinks

	Mn ²⁺ weights
A社 旨茶	0.94 μ g / ml
S社 烏龍茶	0.90 μ g / ml
A社 十六茶	0.59 μ g / ml
K社 生茶	0.57 μ g / ml
A社 ビール	100.00 n g / ml
S社 ビール	82.00 n g / ml
K社 ビール	71.00 n g / ml
Y社 ビール	45.00 n g / ml
B(米)社 ビール	35.00 n g / ml
K社 発泡酒	1.60 n g / ml
人尿	0.48 n g / ml

6. 苦汁塩と焼結苦汁塩のESRスペクトルの考察

次に、補足的ではあるが、表 2 に示した苦汁塩と焼結苦汁塩について触れておきたい。もともと、ESR装置には酸化マグネシウム(MgO)中にMn²⁺をロープした基準試料が

添付されており、磁場補正やg値の決定に多用されている²⁾。一方、MgOは中国由来の古書にも胃腸薬、下剤として記されており、今日でも整腸剤として処方されている。この整腸剤をESR測定すると、Mn²⁺のほかにCr³⁺が極微量含まれることが判った。

ところで、すでに示したように苦汁塩はMn²⁺が0.38 μg/g程度含まれる。これを500~600°Cで焼結すれば⁴⁾、主成分の塩化マグネシウム(MgCl₂)はMgOとなり、ESRスペクトル的には整腸剤・MgOとほぼ一致することが判明した。

7. 固相ESR定量分析法の展望

ESRが微量分析に役立つことを見出した。初めての試みとして、NaClとMn²⁺量の組合わせで、一つの結果を得ることができた。ESRは常磁性物質をキャッチする優れた分析機器であり、今回のようにイオンの状態で、その量を計測できるメリットが示された。

今後はベースとなる塩を選定して、多核種のイオンについても計測可能性が検討されるであろうし、分析化学はもちろん、生化学分野からの研究開発が進むものと思われる。

特に、今回のわずかな分析実験から、日本茶やハイビスカス茶には多くのMn²⁺量が含まれると判った。今後、これらをSOD様機能と考え合わせると興味深い。

本研究にあたって、平成14年度のソルト・サイエンス研究財団の助成研究を受けたことを記し、謝辞とする。

(文献)

- (1). 藤田英夫、磁気共鳴と医学、5、37~41(1994年)。
- (2). 大矢博昭・山内淳、電子スピン共鳴—素材のマイクロキャラクタリゼーション—、講談社サイエンティフィクス、(1989年)。
- (3). 原口紘丞、ICP発光分析の基礎と応用、講談社サイエンティフィクス、(1986年)。
- (4). 久保田賢、平成13年度ソルト・サイエンス研究財団助成研究概要、119(1994年)。

Spectroscopy Studies for the Microelement Ions Weights in the Solid State of NaCl - Foods

Hideo Fujita*, ** Hiroaki Ohya-Nishiguchi***, Kunihiko Tajima#,
Souhei Fukui#, Satoru Tanaka##, and Toshiaki Watanabe**

*Faculty of Integrated Human Studies, Kyoto University
(Present: **School of Humanities for Environmental Policy
and Technology, Himeji Institute of Technology), ***Institute
for Life Support Technology, #Department of Applied Biology,
Kyoto Institute of Technology, and ##Horiba Limited Company

Summary

In our investigation we paid a lot of attention to typical NaCl-foods, from which we observed very characteristic manganese two-value ions (Mn^{2+}) signals different from usual Mn^{2+} patterns so far obtained. Electron spin resonance (ESR) signals unusually continuous a very sharp line at $g=2$, which is assigned to be kind of free radical species. Another signal is due to Mn^{2+} , which gives six hyperfine splitting with equivalent intensity owing to the nuclear spin $I=5/2$ of Mn nuclei. In typical NaCl-foods, however, the Mn^{2+} signals exhibit non-equivalent hyperfine intensity with relatively much higher intensity in the central groups.

Microelement ions weights in the solid state of NaCl-foods were developed by means of ESR. These Studies were reported Mn^{2+} weights of NaCl-foods, for example, Uji-cha(maccha); $195.00 \mu g/g$ and red hibiscus(*Hibiscus sabdariffa*)-cha ; $216.00 \mu g/g$. The data suggest that are related with the effect and the mechanism of Mn-superoxide dismutase (SOD).