

## キャピラリー電気泳動法による茶葉浸出液中のマンガン濃度の測定

河辺聡子\*<sup>1</sup> 藤井俊子\*<sup>2</sup>

### 緒 言

我が国では、ミネラルとしてナトリウム (Na)、カリウム (K)、マグネシウム (Mg)、カルシウム (Ca)、リン (P) の 5 元素、および、微量元素としてクロム (Cr)、モリブデン (Mo)、マンガン (Mn)、鉄 (Fe)、銅 (Cu)、亜鉛 (Zn)、セレン (Se)、ヨウ素 (I) の 8 元素について食事摂取基準が定められている。食品中のこれらのミネラル濃度は、食品原材料として食品成分表にそれらの濃度が記載されているが、加工食品のミネラル濃度については個別に記載されていない。近年消費が著しく増加している市販飲料についてみると、日本では特に茶系飲料の消費が多く、市販飲料全体の 32% を占めている<sup>1)</sup>。茶にはミネラルのうちでも Mn を特有の元素として含むことが知られている<sup>2)</sup>。Mn の過剰摂取はさまざまな神経障害を引き起こすことが報告されており<sup>3)</sup>、イギリスにおいては茶の大量消費が Mn 過剰障害を促進する可能性があることが警告されている<sup>4)</sup>。一方、Mn 欠乏の報告は極めて少ないが、不足すると骨代謝異常、糖脂質代謝 (糖尿病や脂肪性肥満)、運動機能、皮膚代謝などに影響を及ぼすと考えられている<sup>5)</sup>。したがって、各加工食品についても微量元素の濃度の情報が得られることが望ましく、また、茶葉試料中の Mn 濃度の実態を把握する必要もある。

食品中の K、Na および Mn 濃度は一般に原子吸光度法 (AAS)<sup>6)</sup> により測定されているが、AAS では、分析試料の調製が煩雑であり、試料濃度をきわめて低くしなければならぬ。一方、キャピラリー電気泳動法 (HPCE) は、試料の前処理が簡便で、短時間に複数のミネラルを同時に測定できる長所を持っており、HPCE や高速液体クロマトグラフ法による各種飲料中のミネラルの定量法<sup>7,8)</sup> が数多く報告されている。

本研究では、原産地の異なる茶葉 9 品目について

浸出液中の 5 つのミネラル (K, Ca, Na, Mg, Mn) について HPCE による同時分析 (分析 I) を行ない、Mn 濃度を算出した。ついで、茶葉に含有されるとされる Zn, Mn, Cu, Fe, Mg, Ca の HPCE による同時分析法 (分析 II) の検討を行った。

### 方 法

#### 1. 分析装置及び分析条件

分析装置：キャピラリー電気泳動装置フォトダイオードアレイ検出器付 [CAPI-3300, 大塚電子 (株) 製]、キャピラリー；溶融シリカ製 (75 $\mu$ m I.D.  $\times$  800mm L., 有効長 67.5cm) を用いた。

分析条件：印加電圧；25kV, 測定波長；215nm で行なった。分析試料は、落差方式 (25mm  $\times$  30sec) で注入し、注入量は約 10nL であった。

#### 2. 試薬の調製

##### 2.1. 泳動溶液

分析 I：2-ヒドロキシイソ酪酸 [(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(OH)COOH=104.10], 酢酸 (CH<sub>3</sub>COOH=60.05), イミダゾール (C<sub>3</sub>H<sub>4</sub>N<sub>2</sub>=68.08) は和光純薬工業 (株) 製を、18-クラウン 6 (C<sub>12</sub>H<sub>24</sub>O<sub>6</sub>) はシグマ製を用いて下記のように調製した。2-ヒドロキシイソ酪酸；0.1041g, 酢酸；400 $\mu$ L, イミダゾール；0.13616g, 18-クラウン 6；0.10572g を超純水 (比抵抗値 18.2M $\Omega$ ·cm) 200mL に定容し、pH4.2 に調製した。本分析に用いる泳動溶液および標準溶液は、すべてメンブランフィルター (DISMIC-25, ADVANTEC 製 0.20 $\mu$ m) で濾過後、15 分間脱気 [超音波洗浄器 BRANSON, Yamato 製] を行ない、分析に使用した。

分析 II： $\alpha$ -ISOC4 大塚電子 (株) 製を用いた。その内容は、40mM ピコリン酸, 70mM 2-Amino-2-hydroxymethyl-1,3-propanediol, 270 $\mu$ L/100 mL Hexadecyltrimethylammonium Hydroxide (TTAB2) の混合溶液である。

\*1 川崎医療短期大学 介護福祉科 \*2 川崎医療福祉大学大学院 医療技術学研究所 健康科学専攻 非常勤講師 (連絡先) 河辺聡子 〒701-0194 倉敷市松島 316 川崎医療短期大学

E-Mail: satoko@mw.kawasaki-m.ac.jp

## 2.2. 標準溶液

ミネラル標準溶液は、すべて和光純薬工業(株)製を用いた。

分析Ⅰは、 $\text{NH}_4^+$ 、 $\text{K}^+$ 、 $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Na}^+$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ 、 $\text{Mn}^{2+}$ の各1g/L標準液(原液)をそれぞれ1mLずつ採取し、超純水で10mLに定容した。これを30秒間攪拌し、100mg/L標準溶液とした。各濃度の混合標準液は、100mg/Lから超純水で適宜希釈したものをを用いた。

分析Ⅱは、 $\text{Zn}^{2+}$ 、 $\text{Mn}^{2+}$ 、 $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Fe}^{3+}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ 、 $\text{Ca}^{2+}$ の各1g/L標準液(原液)をそれぞれ1mLずつ採取し、超純水で10mLに定容した。これを30秒間攪拌し、100mg/L標準溶液とした。各濃度の混合標準液は、100mg/Lから超純水で適宜希釈したものをを用いた。

## 3. 検量線の作成

分析Ⅰについて、 $\text{K}^+$ 、 $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Na}^+$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ 標準混合溶液の濃度は、5、10、20、100mg/L、 $\text{Mn}^{2+}$ 標準溶液の濃度は、0.5、1.0、2.0、4.0、8.0mg/Lについて測定し、ピーク面積を用いて検量線を作成した。

## 4. 分析試料および試料調製方法

茶葉試料の概要を表1に示した。No. 1、2は茶葉1.5g、No. 3、4は茶葉4.0gを超純水100mLと共にステンレス製ビーカーに入れ、3分間沸騰させた。冷却後、No. 1、2は濾紙(標準定性濾紙グレード2、ワットマン(株)製)で濾過した。No. 3、4はアスピレーター(Vacuum Disposable Bottle Top Filter, IWAKI製)で濾過し、超純水で50mLに定容した。

表1 茶葉の概要

No.	試料名	原産地
1	ほうじ茶	日本
2	雁ヶ音	日本
3	玉露No.1	日本
4	玉露No.2	日本
5	信陽毛尖	中華人民共和国
6	鉄観音	中華人民共和国
7	高冷茶	中華民国(台湾)
8	凍頂烏龍茶	中華民国(台湾)
9	烏龍茶	中華民国(台湾)

No. 5~9は茶葉4.5gを超純水(100°C)、100mLで3分間浸出した。濾紙で濾過後、冷却し、超純水で100mLに定容後、1N塩酸でpH3.0に調製した。それを遠心分離(3,000r.p.m., 10分, 5°C)し、上清を濾過、脱気後分析試料とした。

分析Ⅱについては、茶葉浸出液2倍希釈および50mg/L  $\text{Mn}^{2+}$ 標準溶液を泳動した。

## 5. 茶葉浸出液中のミネラルの定量法

分析Ⅰについて、試料のエレクトロフェログラムのピーク面積を求め、10mg/L標準溶液のピーク面積から比例換算して、試料中のミネラル濃度を算出した。

## 結果および考察

## 1. 検量線

分析Ⅰについて、表2にミネラルの回帰直線と相関係数を示した。検量線は、いずれのミネラルにおいても $\text{K}^+$ 、 $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Na}^+$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ が5、10、20、100mg/L、 $\text{Mn}^{2+}$ が0.5、1.0、2.0、4.0、8.0mg/Lの濃度範囲で良好な直線性を示し、相関係数もきわめて高かった。

表2 回帰直線と相関係数

ミネラル	濃度範囲 (mg/L)	回帰直線	相関係数
$\text{K}^+$	5~100	$y = 0.6992x$	0.9999
$\text{Ca}^{2+}$	5~100	$y = 1.1042x$	0.9992
$\text{Na}^+$	5~100	$y = 1.7608x$	0.9993
$\text{Mg}^{2+}$	5~100	$y = 3.6108x$	0.9997
$\text{Mn}^{2+}$	0.5~8.0	$y = 1.5832x$	0.9858

## 2. 試料中のミネラル濃度

図1-Aに分析Ⅰによる各ミネラルの10mg/L標準混合溶液のキャピラリーエレクトロフェログラムを示した。ピーク中の $\text{NH}_4^+$ は、ミネラルイオンではないが、茶葉中に含有されているため同時に分析した。すべてのイオンは7分以内に分析可能であることが認められた。

図1-Bに分析Ⅰの茶葉No. 8浸出液のキャピラリーエレクトロフェログラムを示した。移行時間より $\text{NH}_4^+$ 、 $\text{K}^+$ 、 $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Na}^+$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ 、 $\text{Mn}^{2+}$ のピークが確認できたため、分析ⅠでMn濃度を測定した。

試料中のマンガン濃度の結果を表3に示した。各茶葉浸出液中<sup>9)</sup>の濃度(mg/L)は、玉露(46)、煎茶(3.1)、かまいり茶(3.7)、番茶(1.9)、ほうじ茶(2.6)、玄米茶(1.5)、烏龍茶(2.4)であった。玉露以外は、それぞれの試料とほぼ同値であると考えられる。

## 3. 微量成分の測定法の検討

図2に分析Ⅱによるミネラル6種類10mg/L標準混合溶液のキャピラリーエレクトロフェログラムを示した。各ミネラルのピークは、標準混合溶液に個別の標準溶液の濃度を変えたものを加えて確認した。

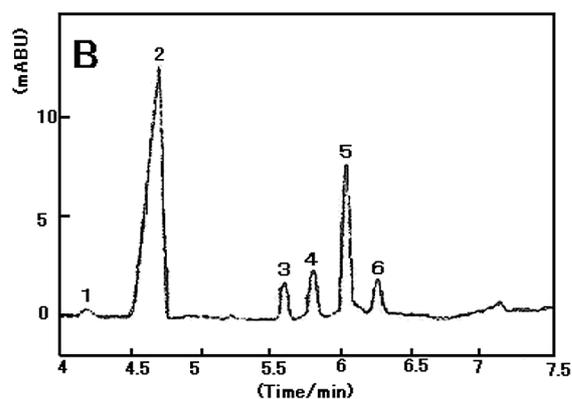
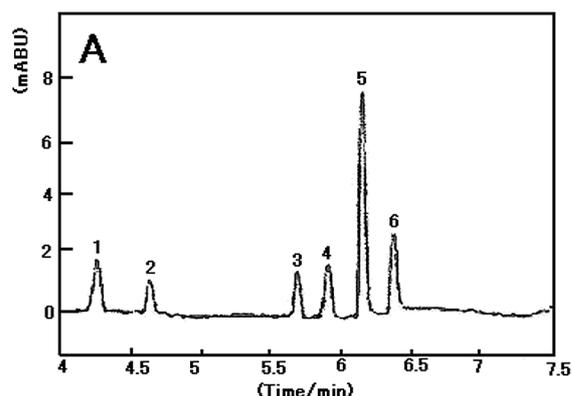


図1 キャピラリーエレクトロフェログラム (分析I)  
 A: ミネラル標準溶液10mg/L,  
 B: 茶葉浸出液試料 No. 8  
 1:  $\text{NH}_4^+$ , 2:  $\text{K}^+$ , 3:  $\text{Ca}^{2+}$ , 4:  $\text{Na}^+$ ,  
 5:  $\text{Mg}^{2+}$ , 6:  $\text{Mn}^{2+}$

$\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  ピークは, 12分以内に分析可能であることが認められた.

分析IIによる茶葉浸出液の測定を行なった結果,  $\text{Mn}^{2+}$  のピークは確認でき濃度も測定できた(未発

表3 茶葉の測定マンガン濃度

No.	試料名	$\text{Mn}^{2+}$ (mg/L)
1	ほうじ茶	3
2	雁ヶ音	2
3	玉露No.1	6
4	玉露No.2	3
5	信陽毛尖	14
6	鉄観音	7
7	高冷茶	2
8	凍頂烏龍茶	5
9	烏龍茶	6

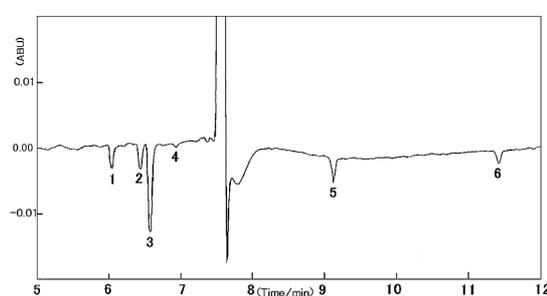


図2 キャピラリーエレクトロフェログラム (分析II)  
 1:  $\text{Zn}^{2+}$ , 2:  $\text{Mn}^{2+}$ , 3:  $\text{Cu}^{2+}$ , 4:  $\text{Fe}^{3+}$ , 5:  $\text{Mg}^{2+}$ , 6:  $\text{Ca}^{2+}$

表データ). しかしながら, その他の微量元素のピークは, Mn に比べて著しく低いため, HPCE での検出ができなかったと推定される. 今後抽出方法等検討を行なう予定である.

本研究にご協力いただいた臨床栄養学科14期生石原知佳氏に感謝します.

文 献

- 1) 社団法人 全国清涼飲料工業会: 主要先進国のソフトドリンク品目別消費量比. 2004, <http://www.j-sda.or.jp/>.
- 2) 松村敬一郎: シリーズ 食品の科学 茶の科学. 第8刷, 朝倉書店, 東京, 91-92, 1997.
- 3) 糸川壽則: ミネラルの辞典. 初版, 朝倉書店, 東京, 270-272, 2003.
- 4) Ross C, O'Reilly DS, McKee R: Potentially clinically toxic concentrations of whole blood manganese in a patient fed enterally with a high tea consumption. *Annals Clinical Biochemistry*, **43**, 226-228, 2006.
- 5) 第一出版社編集部編: 厚生労働省策定 日本人の食事摂取基準(2005年版). 初版, 第一出版社株式会社, 東京, 156-160, 2005.
- 6) 文部科学省 科学技術・学術審議会 資料調査分科会 食品成分委員会: 五訂増補日本食品標準成分表 分析マニュアル. 2版, 東京, 41-42, 53, 2005.
- 7) Toshiko Fujii, Rie Yanai: Simultaneous determination of potassium, calcium, sodium and magnesium ions in drinking water samples by capillary zone electrophoresis. *Metal Ions in Biology and Medicine*, **8**, 46-50, 2004.
- 8) 河辺聡子, 角田佳代, 藤井俊子: にがり中のマグネシウム, ナトリウム, カリウムイオンのキャピラリー電気泳動法に

よる同時測定．川崎医療福祉学会誌，16(1)，151-154，2006．

9) 鈴木一行：食品解説つき新ビジュアル食品成分表．初版，大修館書店，東京，216-217，2007．

(平成20年6月10日受理)

## Determining Manganese Levels in Some Tea Infusion Samples Using High Performance Capillary Electrophoresis

Satoko KAWABE and Toshiko FUJII

(Accepted Jun. 10, 2008)

Key words : tea infusions, HPCE, mineral ion, manganese, determination

Correspondence to : Satoko KAWABE    Department of Care Work  
Kawasaki College of Allied Health Professions  
Kurashiki, 701-0194, Japan  
E-Mail: [satoko@mw.kawasaki-m.ac.jp](mailto:satoko@mw.kawasaki-m.ac.jp)  
(Kawasaki Medical Welfare Journal Vol.18, No.1, 2008 263-266)