

波長分散蛍光法による茶葉中の 微量金属元素 (Mn) の状態分析

Chemical state analysis of a very small amount of metallic element (Mn) in tea leaves using the SR wavelength dispersion x-ray fluorescence method

伊藤 嘉昭^a, 打田 賢司^a, 福島 整^b, 山岡 人志^c, 渡辺 裕子^d, 早川 潔^d, 松嶋 正義^e,
吉門 進三^f, 古谷 充章^g, 藤井 達生^g, 二宮 利男^h, 寺澤 倫孝ⁱ
Yoshiaki Ito^a, Kenji Uchida^a, Sei Fukushima^b, Hitoshi Yamaoka^c, Yuko Watanabe^d, Kiyoshi Hayakawa^d,
Masayoshi Matsushima^e, Shinzo Yoshikado^f, Mitsuaki Huruya^g, Tatsuo Fujii^g, Toshio Ninomiya^h,
Mititaka Terasawaⁱ

^a京都大学化学研究所, ^b物質・材料研究機構, ^c理化学研究所, ^d㈱福寿園 CHA 研究センター,
^eJohnan 株式会社, ^f同志社大学, ^g岡山大学, ^h(財)高輝度光科学研究センター, ⁱ兵庫県立大学
^aKyoto University, ^bNIMS, ^cRIKEN, ^dFUKUJUEN Co Ltd., ^eJohnan Co Ltd., ^fDoshisha University,
^gOkayama University, ^hJASRI, ⁱUniversity of Hyogo.

Mnは、主に土壌中の水溶性Mn化合物を吸収した作物を摂取することで人体に吸収されている。Mnは、グルコース代謝やビタミンB1の活性に欠かせないだけでなく、欠乏するとインスリンの合成力の低下による糖尿病の誘発や発育不全や平衡感覚の衰えなどが指摘されている。日本茶はMnを含んでおり、身近なMnの供給源として役立つものと期待される。本実験では、赤色光下で育成した茶葉と暗黒下で育成したものの2種類において、高分解能2結晶分光器を用いて茶葉中に含まれるMnの状態分析を行った。その結果、試料中のMnはいずれもほぼ2価であることがわかった。

キーワード： 茶葉、Mn、酸化状態、状態分析、高分解能蛍光X線、2結晶分光器

背景と研究目的：

お茶は日常欠かすことが出来ない飲料であると同時に、我が国固有の豊かな文化形成に大きな貢献をも果たしてきた。現在では、機能性食品として、健康増進への効果にも熱い期待が寄せられている。特に日本茶は、人体に必要な微量元素 (Ca, Fe, Zn, Mg, Mn) を茶葉の成分に含んでいることに特徴があり、優良な健康食品として再注目されつつある。

Mnは、グルコース代謝、あるいはビタミンB1の体内における活性過程において重要な役割を果たしていることが知られている。すなわち、糖質・脂質・タンパク質の代謝に働く酵素の構成元素の一つであり、たんぱく質を合成してエネルギーを生み出す役割の一環を担っている。また、Mnは活性酸素を分解する酵素である「SOD」(スーパーオキシドディスムターゼ)を構成する成分の一つであるので、欠乏すると動脈硬化などの生活習慣病を引き起こすリスクが大きくなる可能性が指摘されている。

我々は、予備実験として、茶葉の育成時期などによる茶葉に含有するMn濃度を通常型(波長分散型1結晶)蛍光X線分析装置を用いて調べた。その結果から、茎の部分には時期にかかわらずほぼ一定の含有量(～1000ppm)のMnが存在し、上位葉(先に出た葉)から下位葉に行くにしたがって含有量は増加する傾向があり、秋摘み取りの茶葉には比較的多くMnが含有されている事もわかった。また、光の波長、たとえば、太陽光、青色光、黄色光、赤色光、遮光状態(暗黒下)と育成条件を変えることで、Mn含有量が変化することが明らかになった。本研究では、それらの情報をさらに高度化するために、赤色と暗黒下で育成した茶葉中のMnの酸化状態について検討した。

実験：

蛍光X線の高分解能測定には、高分解能2結晶分光装置(㈱リガク社製, System 4580E)を使用した。分光結晶はGe(111)で、検出器はXeガス封入型比例計数管(Sealed PC)を用いた。分析

に用いた試料及び条件は表 1 のとおりである。

表 1. 分析試料と参照試料（分析試料は、約 20 μm 程度の粒径になるまで粉碎後ペレットにする）

分析試料	2 番茶赤色光下で育成したもの	2 番茶暗黒下で育成したもの	通常条件での育成試料
標準試料	MnO (2 価)	Mn ₂ O ₃ (3 価)	MnO ₂ (4 価)

茶葉試料は、茎と各葉位別に葉を分け、蒸熱後（70℃、約 30 秒）乾燥機で乾燥させ、さらに我々が開発中の低温粉碎器により約 50℃で粉末化(粒径：約 20 μm)して、錠剤に形成した。錠剤の径は 20mm ϕ 、厚さ 3mm で重量をほぼ一定になるようにした。

表 2. 実験条件（分析線と測定条件）

分析対象線	Mn $K\alpha_{1,2}$
分光結晶	Ge(111)
測定領域 (2θ) (参照試料)	38.42° ~38.72°
測定領域 (2θ) (参照試料)	38.46° ~38.68°
ステップ角	0.001° ~0.002°
測定時間	1~30 秒
励起光のエネルギー	6531,6533,6535,6537,6538,6539,6540,6542,6544,6547,6550,6560,6580 (eV)

実験条件を、表 2 に示す。Mn の酸化状態は、スペクトルのエネルギー位置と形状に反映される。特に、本測定では微量の Mn を分析対象とするため、感度を主眼においた分光結晶の選択を重視した。したがって、測定においてスペクトルの形状がなるべく明確になるように条件を選択した。通常の吸収端より十分高い励起エネルギーによる測定では、多重電離過程がスペクトルを複雑にし、かつスペクトル線幅を増加させている。この点を考慮し、本実験では、励起光のエネルギーを K 吸収端近傍に限定することにより多電子遷移過程のスペクトル形状の寄与を抑え、分解能の不足を補おうと試みた。そのため励起光のエネルギー条件を、従来の Mn 酸化物の X 線吸収スペクトルのデータを基にして表 2 に示すとおりに決めた。フラックスは、このエネルギー領域で $\sim 3 \times 10^{13}$ photons/sec である。なお、茶葉中の Mn のピーク強度は、約 200cps であった。測定には十分な強度である。

得られたスペクトルは、同じ励起エネルギーで測定した標準試料のスペクトルを成分と仮定した非線形最小二乗法によるピーク解析[1]を適用して、存在すると思われる酸化状態とその相対存在比の決定を行った。

結果および考察：

1. 励起エネルギー変化時の標準試料スペクトルの変化

測定結果の例として、図 1 に MnO (Mn²⁺) および MnO₂ (Mn⁴⁺) の励起エネルギーに対する Mn $K\alpha_{1,2}$ の形状変化を示す。MnO は 6544eV、MnO₂ は 6547eV 以下の励起エネルギー（吸収端以下の励起エネルギー）となるとピークが低エネルギー側にテイリングした形状を示すことが確認でき、スペクトル生成過程が双極子輻射過程から電子ラマン散乱へ変化していることがわかる。しかし、面白いことに、いずれも励起エネルギーをさらに下げると、電子ラマン散乱過程によるテイリングがおさまり双極子輻射過程によるスペクトル形状とよく似た形状に一度戻る事がわかる。特に MnO では、6538eV での励起で完全な電子ラマン散乱による形状を示しているにもかかわらず、6537eV での励起ではシャープなピーク（共鳴散乱）と電子ラマン散乱による形状が混在しているように見える。この形状は、電子ラマン散乱過程の他に discrete な分子軌道による共鳴過程が共存している事を示していると考えられる。

電子ラマン散乱過程に対する化学状態の影響についてはほとんど研究されていないが、この過程は極めて緩和時間が早く、双極子輻射過程に比べて価電子帯の緩和の影響を受けにくいであろう事を考えると、より試料に即した化学状態を反映した結果を与える可能性がある。すなわち、

この領域のスペクトル変化を利用することで、今まで以上により精密な状態分析を行える可能性も指摘できる。

また、このスペクトル形状の起因を理解することで、本手法による酸化状態分析の本質により一層迫ることが可能であろうと考えられる。

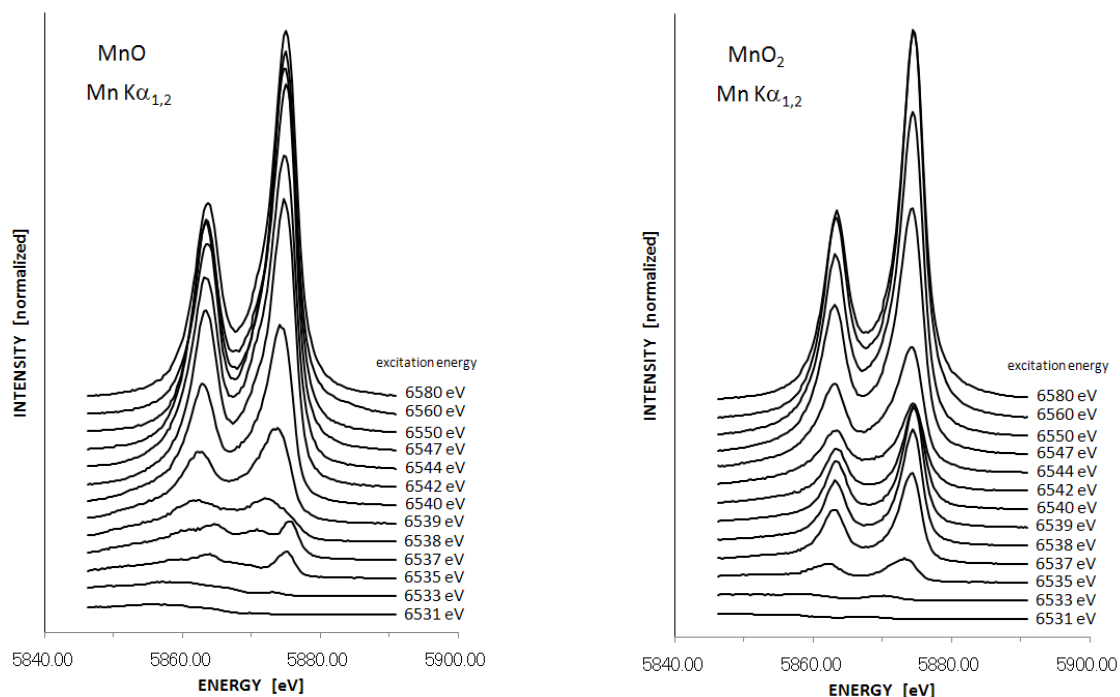


図 1. 励起エネルギーの違いによる MnO (Mn^{2+})及び MnO₂ (Mn^{4+})の Mn K $\alpha_{1,2}$ の形状変化

2. 茶葉試料の解析結果

図 2 及び図 3 に、結果の代表的な例として、6547eV で励起した場合の赤色灯下及び遮光下で生育した茶葉試料の測定結果を示す。これらの結果から、両試料ともに含有している Mn は、ほぼ 2 価であることがわかる。この励起エネルギー条件では、図 1 に示すとおり 4 価の Mn はすでに電子ラマン散乱領域に入っているが、2 価の Mn はまだ双極子輻射過程の領域にいる。したがって、両者のスペクトル形状はもっとも大きく異なる条件であるとみなすことができるが、図 2 および図 3 とともに試料のスペクトル形状はテリングの少ない双極子輻射過程の特徴を示しており、また、フィッティングの結果からも形状・エネルギー位置ともに MnO によく対応した位置にスペクトルが出現していることが結論できる。これらの結果は、6547eV より高い励起エネルギー条件では総て共通であり、リーズナブルな結果であることが示された。

なお、6547eV より低い励起エネルギー条件では、フィッティングは正常に遂行することができなかった。これは、電子ラマン散乱の領域であると、価電子帯の影響については双極子輻射の場合と同じモデルで議論が出来ないことを示している。

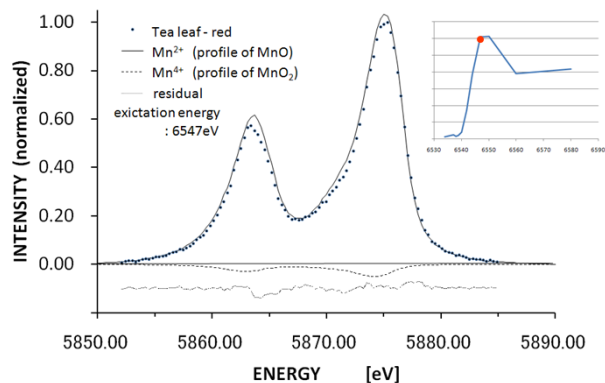


図 2. 赤色灯下で生育した茶葉試料の解析結果

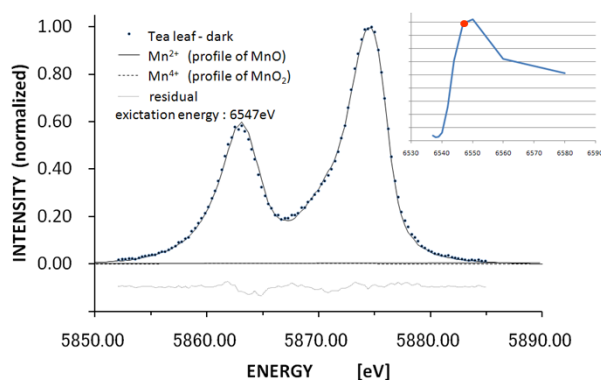


図 3. 遮光下で生育した茶葉試料の解析結果

この結果は、通常条件での育成試料でも同様であった。すなわち、茶葉中の Mn は、育成条件にかかわらずほぼ 2 価で存在していることが結論された。

この結果は、茶葉中の Mn の存在形態に一つの知見を与える。すなわち、2 価のスペクトルとして観測されたという事実は、ポルフィリンに代表される Mn に対する配位子が 4 つであるような化合物を取っていない可能性が高いということである。たとえば、Cr を含むポルフィリンなどでは、4 つの配位子が配位するとスペクトルが 4 価に見える場合が存在する。今回は、それに当てはまらない。

また、MnO と同じ形状であるということから、茶葉中の Mn は 3d 不対電子を持っていると結論出来る。例えば Fe の場合、赤血塩や黄血塩のように Fe に対して CN 基が配位結合している場合であると、3d のバックドネーションにより Fe に不対電子が存在しなくなり、Fe $K\alpha_{1,2}$ の線幅は極端に狭くなる[2]。しかし、今回はこのような形状変化も観測されておらず、茶葉中の Mn は、配位結合よりも、通常のイオン結合を取っている可能性が高い事が指摘できよう。

Mn は、もっとも熱力学的に安定な状態は 4 価であると考えられる。その一方で、Mn の欠乏症と診断された場合、2 価の硫酸塩 (MnSO₄) の形での経口投与が代表的な治療法である。すなわち、2 価の状態は人体による吸収を考えると有利な化学状態であると考えられる。言い換えれば、2 価の Mn を含む茶葉は、Mn 摂取に適した食品であることが今回の分析結果から指摘できると考えられる。

今後の課題：

今回の実験では、産業利用の観点からも学術的な観点からも実りの多い結果が得られているが、当面の課題として以下の点が挙げられよう。

まず、産業利用としては

1. 本実験結果の追試による確認。さらに、様々な条件での茶葉の育成、あるいは加工処理を行った茶葉試料の分析の実施。
2. 例えば強誘電体のドーパントとしての Mn などの状態分析への応用等による、吸収端より低い励起エネルギーによる実用分析法の確立。

また、学術的な課題としては

1. 電子ラマン散乱過程に対する化学状態の影響の明確化（報告例がほとんど無い）。
2. 吸収端より低い励起エネルギーで観測できる、discrete な分子軌道による共鳴状態におけるピーク形状を形成する電子緩和過程の解明。

いずれにせよ、放射光（挿入光源光）と二結晶型分光系の組み合わせは、微量元素の化学状態分析に極めて有効であることを本結果は示しており、さらに分析例を蓄積していくことで産業利用の実用的方法としての確立を目指したい。

参考文献：

- [1] 鹿籠、寺田、古谷、福島、合志、X 線分析の進歩 第 20 集 79-91 (1989)
- [2] 柏倉、鈴木、合志、X 線分析の進歩 第 8 集 29-36 (1976)