

波長分散型蛍光X線分析装置を用いたマツタケの原産国判別法の検討

有山薫^{1,2}

Kaoru ARIYAMA

要 約

波長分散型の蛍光 X 線分析装置により、10種類の認証標準物質を用いて 17元素(N, Na, Mg, Al, Si, P, S, Cl, K, Ca, Fe, Cu, Zn, Se, Br, Rb 及び Sr)を対象に検量線を引いたところ、14元素について高い相関係数($r^2 = 0.96$)が得られた。17元素についてこれら検量線を含む分析条件を定め、既に他の分析法で定量値が得られている乾シイタケとタマネギ試料の定量を行ったところ、一部元素を除いて良好な結果が得られた。この条件でマツタケ (*Tricholoma matsutake*)の定量分析を行い、日本、韓国、北朝鮮、中国産品の原産国判別を試みた。線型判別分析により判別関数を構築したところ、スクリーニングには使えるレベルの判別精度が得られた。本研究により、蛍光 X 線分析が農産物の原産地判別に利用できることが示された。

1. はじめに

農林物資の規格化及び品質表示の適正化に関する法律 (JAS法) により生鮮農産物には原産地表示が義務付けられているが、輸入品を国産と表示する偽装が後を絶たない。原産地表示の信頼性を高め、消費者の商品選択に資するために、科学的に農産物等の原産地を判別する技術の開発が求められている。食品の原産地を科学的に判別するための手法として、誘導結合プラズマ発光分析法(ICP-OES)及び/又は誘導結合プラズマ質量分析法(ICP-MS)により無機分析を行い、得られた多元素の組成から判別する手法の開発が近年盛んに行われており、市販品を対象とした検査にも利用され始めている。しかし、この手法では分析に熟練が必要であると共に判別結果を出すのに 2日間以上を要する。また、ICP-OES 及び/又は ICP-MS、マイクロ波試料分解装置のような高額な分析機器、過塩素酸やフッ化水素酸対応のドラフトチャンバー及び廃水処理システムなどの設備を整備している必要がある。さらに、硝酸、過塩素酸、フッ化水素酸のような危険な試薬を扱う必要がある点などが問題となっている。そこで本研究では、上記設備の整備の他、酸の取り扱いも必要なく、迅速かつ簡便に無機分析を行うことができる蛍光 X 線分析により農水産物の原産地判別が可能であるか調査することを目的とし、原産地判別法の開発が望まれているマツタケ (*Tricholoma matsutake*)を対象として検討した。

¹ (独)農林水産消費安全技術センター本部

² 現 (財)日本穀物検定協会東京分析センター

マツタケは日本における収穫量が近年著しく減少しており、日本で消費されるマツタケのうち国産品は1%程度となっている。希少となっている国産品に対する安心感、鮮度の高さなどから、国産品と輸入品との間の価格差は7倍程度もある。また、2006年の輸入実績では、輸入品の70%が中国産であり、続いて北朝鮮産が13%、トルコ産が8%、アメリカ産が5%、韓国産が2%である(財務省貿易統計)。アメリカ等の北米産は色が白く、明らかに国産とは異なる形状をしている。トルコやモロッコなど地中海沿岸のマツタケは日本産に比べると丈が低く、形状がやや異なっており、生の状態では国産との違いを見て取ることができる。一方、中国、北朝鮮、韓国などの東アジア産は見た目では国産品と区別が付かない形状をしている。

このようなことから、外見では国産品と区別が付かない東アジア産と国産品との間で蛍光X線分析により原産地判別が可能か検討し、日本と地理的に離れたトルコとメキシコ産についても元素組成の違いを調べた。また、2007年時点で北朝鮮からマツタケの輸入が禁止されているが、中国や韓国経由でこれら産地産品として一部日本に輸入されている例があるとの疑いが持たれている。さらに中国産を韓国産と表示して販売されるようなことも考えられるため、韓国、北朝鮮、中国間の判別の可能性についても検討した。

本研究では軽元素も測定できる波長分散型蛍光X線分析装置を用いて可能な限り多くの元素を定量できる分析条件を設定するため、植物体の認証標準物質10種類について蛍光X線分析を行い、検量線を引いた。その結果、異なる植物体にもかかわらず17元素について高い直線性が得られた。これら検量線を用いたマツタケの多元素定量分析法を設定し、国産、韓国産、北朝鮮産、中国産、トルコ産、及びメキシコ産試料の分析をした。得られた定量値を用いて線型判別分析を行い、日本-東アジア産の間で原産地を判別する判別関数を構築した。クロスバリデーションによりその判別精度を見積もったところ、スクリーニング判別には使える判別精度が得られた。また、韓国、北朝鮮、中国間についても判別できる可能性が得られた。本研究により、蛍光X線分析が農水産物の原産地判別に適用できることが示されたので報告する。

2. 実験方法

2.1 試料

できるだけ由来の確かな試料を入手するため、国産品は仲卸や産地の収穫者から国内の流通量のシェアを考慮して入手した。韓国産品は仲卸から、その他の産地品は仲卸や小売店等から入手した。本研究には、国産14道府県産の44試料、韓国産22試料、北朝鮮産22試料、中国産28試料、トルコ産15試料、及びメキシコ産5試料を用いた。マツタケは同一商品でも、異なる地域(産地)のものが混ざっている可能性があるため、重さが約25g以上の一個体を対象に分析した。ただし、一部の一個体が小さいものは複数個体を均一化して用いた。試料の詳細を表1~6に示す。

分析条件の確かさを確認するため、門倉らの報告¹⁾においてICP-OES及びICP-MSにより一部元素の定量値を得た、粉碎し乾燥させて均一化した2種類の乾シイタケ試料を

使用した。同様に、Ariyamaらの報告²⁾において一部元素の定量値を得た、北海道、兵庫県及び佐賀県産タマネギの共通試料を使用した。

検量線を引くため認証標準物質(SRM)として、National Institute of Standard & Technology (Gaithersburg, MD, USA)の Wheat Flour(SRM1567a)、Rice Flour(SRM1568a)、Spinach Leaves (SRM1570a)、Apple Leaves(SRM1515)、Tomato Leaves(SRM1573a)、Pine Needles(SRM1575a)、Corn Kernel(RM8413)、及び China National Analysis Center for Iron and Steel(Beijing, China)の Tea(GBW07605)、Cabbage(GBW08504)、Bush Branches and Leaves(GBW07603)の10種類を用いた。

表1 国産マツタケ試料の詳細

No.	原産地	確認方法	入手年月日	入手場所又は方法
1	北海道	聞き取り	2006年9月20日	大阪中央卸売市場
2	北海道	聞き取り	2006年9月20日	大阪中央卸売市場
3	北海道	札表示	2006年10月2日	東京中央卸売市場
4	北海道	箱表示	2006年10月16日	東京中央卸売市場
5	北海道	箱表示	2006年10月16日	東京中央卸売市場
6	岩手県	箱表示	2006年10月2日	東京中央卸売市場
7	岩手県	店頭表示 + 聞き取り	2006年10月2日	東京中央卸売市場
8	岩手県	箱表示	2006年10月2日	東京中央卸売市場
9	山形県	箱表示	2006年10月2日	東京中央卸売市場
10	山形県	箱表示	2006年10月2日	東京中央卸売市場
11	山形県	箱表示	2006年10月2日	東京中央卸売市場
12	山形県	箱表示	2006年10月2日	東京中央卸売市場
13	山形県	箱表示	2006年10月2日	東京中央卸売市場
14	山形県	箱表示	2006年10月2日	東京中央卸売市場
15	山形県	箱表示	2006年10月2日	東京中央卸売市場
16	宮城県	店頭表示 + 聞き取り	2006年10月2日	東京中央卸売市場
17	宮城県	札表示	2006年10月2日	東京中央卸売市場
18	長野県	店頭表示 + 聞き取り	2006年10月2日	東京中央卸売市場
19	長野県	店頭表示 + 聞き取り	2006年10月2日	東京中央卸売市場
20	長野県	箱表示	2006年10月2日	東京中央卸売市場
21	長野県	箱表示	2007年10月30日	大阪中央卸売市場
22	岐阜県	札表示	2007年10月23日	東京中央卸売市場
23	岐阜県	聞き取り	2007年10月23日	東京中央卸売市場
24	京都府	箱表示	2007年10月26日	東京中央卸売市場
25	京都府	箱表示	2007年10月26日	東京中央卸売市場
26	京都府	箱表示	2007年10月26日	東京中央卸売市場
27*	京都府	箱表示	2007年10月26日	東京中央卸売市場
28	京都府	聞き取り	2007年11月1日	収穫者から
29	奈良県	箱表示	2007年10月19日	大阪中央卸売市場
30	奈良県	箱表示	2007年10月19日	大阪中央卸売市場
31	和歌山県	聞き取り	2007年10月26日	東京中央卸売市場
32	和歌山県	聞き取り	2007年10月26日	東京中央卸売市場
33	和歌山県	札表示	2007年10月30日	大阪中央卸売市場
34	和歌山県	札表示	2007年10月30日	大阪中央卸売市場
35	兵庫県	箱表示	2007年10月30日	大阪中央卸売市場
36	兵庫県	箱表示	2007年10月30日	大阪中央卸売市場
37	島根県	聞き取り	2006年10月26日	東京中央卸売市場
38	岡山県	聞き取り	2007年10月30日	収穫者から
39	岡山県	箱表示	2007年10月30日	大阪中央卸売市場
40	岡山県	箱表示	2007年10月30日	大阪中央卸売市場
41	広島県	聞き取り	2007年10月29日	収穫者から
42	広島県	聞き取り	2007年10月29日	収穫者から
43*	山口県	札表示	2007年10月30日	東京中央卸売市場
44*	山口県	札表示	2007年10月30日	東京中央卸売市場

* 4個体を均一化した試料

表2 韓国産マツタケ試料の詳細

No.	原産地	確認方法	入手年月日	入手場所
1	韓国	札表示	2006年9月19日	大阪中央卸売市場
2	韓国	札表示	2006年9月19日	大阪中央卸売市場
3	韓国	札表示	2006年9月19日	大阪中央卸売市場
4	韓国	札表示	2006年9月20日	大阪中央卸売市場
5	韓国	札表示	2006年9月20日	大阪中央卸売市場
6	韓国	札表示	2006年9月20日	大阪中央卸売市場
7	韓国	札表示	2006年9月20日	大阪中央卸売市場
8	韓国	聞き取り	2006年10月2日	東京中央卸売市場
9	韓国	聞き取り	2006年10月2日	東京中央卸売市場
10	韓国	聞き取り	2006年10月2日	東京中央卸売市場
11	韓国	聞き取り	2006年10月4日	東京中央卸売市場
12	韓国	聞き取り	2006年10月4日	東京中央卸売市場
13	韓国	聞き取り	2006年10月4日	東京中央卸売市場
14	韓国	聞き取り	2006年10月4日	東京中央卸売市場
15	韓国	聞き取り	2006年10月4日	東京中央卸売市場
16	韓国	聞き取り	2006年10月4日	東京中央卸売市場
17	韓国	箱表示	2007年10月5日	東京中央卸売市場
18	韓国	箱表示	2007年10月5日	東京中央卸売市場
19	韓国	箱表示	2007年10月5日	東京中央卸売市場
20	韓国	聞き取り	2007年10月16日	東京中央卸売市場
21	韓国	聞き取り	2007年10月16日	東京中央卸売市場
22	韓国	聞き取り	2007年10月16日	東京中央卸売市場

表3 北朝鮮産マツタケ試料の詳細

No.	原産地	確認方法	入手年月日	入手場所
1	北朝鮮	聞き取り	2006年9月11日	大阪中央卸売市場
2	北朝鮮	聞き取り	2006年9月11日	大阪中央卸売市場
3	北朝鮮	聞き取り	2006年9月11日	大阪中央卸売市場
4	北朝鮮	聞き取り	2006年9月11日	大阪中央卸売市場
5	北朝鮮	札表示	2006年9月19日	大阪中央卸売市場
6	北朝鮮	札表示	2006年9月19日	大阪中央卸売市場
7	北朝鮮	札表示	2006年9月19日	大阪中央卸売市場
8	北朝鮮	札表示	2006年9月19日	大阪中央卸売市場
9	北朝鮮	札表示	2006年9月19日	大阪中央卸売市場
10	北朝鮮	札表示	2006年9月19日	大阪中央卸売市場
11	北朝鮮	札表示	2006年9月19日	大阪中央卸売市場
12	北朝鮮	札表示	2006年9月20日	大阪中央卸売市場
13	北朝鮮	札表示	2006年9月20日	大阪中央卸売市場
14	北朝鮮	札表示	2006年9月20日	大阪中央卸売市場
15	北朝鮮	札表示	2006年9月20日	大阪中央卸売市場
16	北朝鮮	聞き取り	2006年10月2日	東京中央卸売市場
17	北朝鮮	聞き取り	2006年10月2日	東京中央卸売市場
18	北朝鮮	聞き取り	2006年10月4日	東京中央卸売市場
19	北朝鮮	聞き取り	2006年10月4日	東京中央卸売市場
20	北朝鮮	聞き取り	2006年10月4日	東京中央卸売市場
21	北朝鮮	聞き取り	2006年10月4日	東京中央卸売市場
22	北朝鮮	聞き取り	2006年10月11日	東京中央卸売市場

表4 中国産マツタケ試料の詳細

No.	原産地	確認方法	入手年月日	入手場所又は方法
1	中国	包装表示	2006年9月3日	小売店(埼玉県)
2	中国	店頭表示	2006年9月3日	小売店(埼玉県)
3	中国	店頭表示	2006年9月3日	小売店(埼玉県)
4	中国	店頭表示	2006年9月9日	小売店(埼玉県)
5	中国	店頭表示	2006年9月9日	小売店(埼玉県)
6	中国	店頭表示	2006年9月9日	小売店(埼玉県)
7	中国	店頭調査	2006年9月9日	小売店(埼玉県)
8	中国	札表示	2006年9月19日	大阪中央卸売市場
9	中国	札表示	2006年9月19日	大阪中央卸売市場
10	中国	札表示	2006年9月19日	大阪中央卸売市場
11	中国	札表示	2006年9月20日	大阪中央卸売市場
12	中国	札表示	2006年9月20日	大阪中央卸売市場
13	中国	札表示	2006年9月20日	大阪中央卸売市場
14	中国	札表示	2006年9月20日	大阪中央卸売市場
15	中国	聞き取り	2006年10月2日	東京中央卸売市場
16	中国 吉林省	札表示	2006年10月4日	東京中央卸売市場
17	中国 吉林省	札表示	2006年10月4日	東京中央卸売市場
18	中国 吉林省	札表示	2006年10月4日	東京中央卸売市場
19	中国 吉林省	札表示	2006年10月4日	東京中央卸売市場
20	中国	箱表示	2006年10月4日	東京中央卸売市場
21	中国	箱表示	2006年10月4日	東京中央卸売市場
22	中国 吉林省	札表示	2006年10月23日	東京中央卸売市場
23	中国 吉林省	札表示	2006年10月23日	東京中央卸売市場
24	中国	聞き取り	2006年10月24日	大宮中央卸売市場
25	中国	聞き取り	2006年10月24日	大宮中央卸売市場
26	中国	聞き取り	2006年10月24日	大宮中央卸売市場
27	中国	聞き取り	2006年10月24日	大宮中央卸売市場
28	中国	聞き取り	2006年10月24日	大宮中央卸売市場

表5 トルコ産マツタケ試料の詳細

No.	原産地	確認方法	入手年月日	入手場所又は方法
1	トルコ	店頭表示	2006年10月22日	小売店(埼玉県)
2	トルコ	店頭表示	2006年10月22日	小売店(埼玉県)
3	トルコ	店頭表示	2006年10月22日	小売店(埼玉県)
4	トルコ	店頭表示	2006年10月22日	小売店(埼玉県)
5	トルコ	聞き取り	2006年10月24日	大宮中央卸売市場
6	トルコ	聞き取り	2006年10月24日	大宮中央卸売市場
7	トルコ	聞き取り	2006年10月24日	大宮中央卸売市場
8	トルコ	聞き取り	2006年10月24日	大宮中央卸売市場
9	トルコ	聞き取り	2006年10月24日	大宮中央卸売市場
10	トルコ	聞き取り	2006年10月24日	大宮中央卸売市場
11	トルコ	聞き取り	2006年10月24日	大宮中央卸売市場
12	トルコ	聞き取り	2006年10月24日	大宮中央卸売市場
13	トルコ	聞き取り	2006年10月24日	大宮中央卸売市場
14	トルコ	聞き取り	2006年10月24日	大宮中央卸売市場
15	トルコ	聞き取り	2006年10月24日	大宮中央卸売市場

表6 メキシコ産マツタケ試料の詳細

No.	原産地	確認方法	入手年月日	入手場所又は方法
1	メキシコ	箱表示	2007年10月5日	東京中央卸売市場
2	メキシコ	箱表示	2007年10月5日	東京中央卸売市場
3	メキシコ	箱表示	2007年10月5日	東京中央卸売市場
4	メキシコ	箱表示	2007年10月5日	東京中央卸売市場

2.2 機器と試薬

試料の粉碎には、セラミック刃のミキサー B-400(日本ビュッヒ株)を、試料の乾燥には恒温乾燥器 FC-610(アドバンテック東洋株)を、試料の成型にはブリケットマシン MP-35-02(株島津製作所)を、多元素の測定には波長分散型の蛍光X線分析装置 XRF-17500(株島津製作所)を用いた。超純水は超純水製造装置 MilliQ Element(日本ミリポア株)にて製造した比抵抗 18 MΩcm以上のものを使用した。

2.3 無機分析

マツタケは水導水で表面に付着している土を表面が若干剥がれるくらいまで完全に洗い流し、超純水で十分に洗い流して水をよく切った。その試料の石附の先端から上 1 cmまでを樹脂製のまな板とセラミック刃の包丁を用いて除去部位として切り取った。この操作で石附を完全に取り除くことができない場合には、取り残した石附をセラミック刃の包丁で切り取った。セラミック刃のミキサー用のピーカーに取り、ほぼ同量の超純水を加えて粉碎した。粉碎試料を 5~6 g テフロン製の皿に取り、上面を平らに均して恒温乾燥機により常圧、105 °C で 12~16時間乾燥させた。乾燥試料を清浄な樹脂製の袋に二重にして入れ、三つ折りにした同じ樹脂製の袋で上下に挟み、乳鉢で袋の上から試料を潰して均一化した。

均一化した試料 1.5~3.5 gを二重にした薬包紙の上に載せた内径 35 mmの塩化ビニル製リング(株島津製作所)の内側に取り、三重にした薬包紙を上に乗せてブリケットマシンにセットして 30 tの圧力を 20秒かけ、蛍光X線分析用試料を作製した。

厚さ 5 mmのシリコン製の下敷きの上に薬包紙を載せ、その上に作製した試料を載せ、直径 30 mmの Ti製マスクを付けた固体試料容器(株島津製作所)にセットした。N, Na, Mg, Al, Si, P, S, Cl, K, Ca, Fe, Cu, Zn, Se, Br, Rb 及び Sr の 17元素を対象に、表 7 に示す 1 試料当たり 30分の測定条件で波長分散型の蛍光X線分析装置により測定した。試料の測定の前と後にピーク強度が一定のガラス又は SRM Bush Branches and Leaves を測定してドリフト標準化し、定量値は認証標準物質の認証値、参考値又は濃度情報と分析値より引いた検量線から求めた。

表7 マツタケの蛍光X線定量分析の条件と検出限界等

元素	ピーク測定時間 (s)	BG 測定時間 (s) ^a	スリット	フィルタ	測定線	2θ (deg)	補正方法	n ^b	r ²	検出限界	正確度
N	30	15	高感度		Kα	33.830	raw ^c	7	0.9184	0.58	0.46 %
Na	40	20			Kα	55.080	raw	6	0.9576	32	10 μg/g
Mg	10	5			Kα	45.100	0点 ^d + Net ^e	10	0.9886	0.027	0.046 %
Al	30	15			Kα	145.180	raw	8	0.9849	75	117 μg/g
Si	20	10			Kα	109.040	0点 + Net	2	0.9822	0.019	0.042 %
P	10	5			Kα	140.880	raw	8	0.9307	0.20	0.014 %
S	10	5			Kα	110.540	0点 + Net/BG	7	0.9717	0.034	0.053 %
Cl	30	15	高分解能	Al	Kα	92.680	raw	6	1.0000	0.018	0.0040 %
K	10	5			Kα	136.690	raw	8	0.9815	1.0	0.13 %
Ca	10	5			Kα	113.090	0点 + Net	9	0.9921	0.0044	0.14 %
Fe	20	10			Kα	57.520	Net/BG	8	0.9897	44	37 μg/g
Cu	40	20			Kα	45.030	Net/BG	10	0.9923	3.2	0.44 μg/g
Zn	30	15			Kα	41.800	Net/BG	9	0.9915	6.4	2.0 μg/g
Se	40	20			Kα	31.890	0点 + Net	9	0.9659	0.31	0.12 μg/g
Br	40	20			Kα	29.970	Net/BG	5	0.9925	0.30	0.72 μg/g
Rb	20	10			Kα	26.620	Net	10	0.9868	2.3	35 μg/g
Sr	40	20			Kα	25.150	0点 + Net/BG	5	0.9868	0.69	2.6 μg/g

a ピークの両側それぞれのバックグラウンド強度 (BG1 と BG2) の測定時間

b 検量線作成に用いた認証標準物質の数

c raw をドリフト標準化

d 0 点を通過する検量線

e Net をドリフト標準化

2.4 統計処理

線型判別分析は STATISTICA Pro 06J (スタットソフトジャパン(株))を用い、ステップワイズ法によりできるだけ少ない元素数で判別精度が高くなるように元素を絞り込み、判別関数を構築した。有意差を判定するための検定は Microsoft Excel 2002 (Microsoft corporation, Redmond, WA, USA)を用いて Welch の t 検定(両側)により行った。その他の統計処理も Microsoft Excel 2002 を用いて行った。

判別モデルの判別精度を見積もるため、10-fold cross validation を行った。これは、本研究で定量値を得た全試料を対象にランダムに 10 のグループに分け、その内の 1 つのグループを除いた試料についての対象元素の定量値を用いて新たに判別モデルを構築し、除いた試料の原産地を予測する操作を 10 回行うことで全試料を重複無く予測する。この予測的中率を判別精度として見積もる。この操作の中で構築される 10 の判別モデルは全試料の定量値を用いて構築する最終的な判別モデルとは係数と定数がそれぞれ若干異なるが、最終的な判別モデルは得られる判別精度程度が若干高い判別精度を持つと推定される。

3. 結果と考察

3.1 検量線と補正方法の決定

認証標準物質 10 種類の内、認証値、参考値又は濃度情報が示されている元素のこれらの値と、図 1 に示す、ドリフト標準化した生強度(raw)、ドリフト標準化した Net強度(Net)及び Net /バックグラウンド強度(BG)を用いてそれぞれの検量線を引いた。なお、大きく離れたデータは外して検量線を引いた。さらに、マツタケの元素濃度が SRM の濃度に比べて低い場合には、Net と Net / BG を用いた検量線として 0 点を通過する検量線も検討した。これらの検量線を比較し、最も相関係数(r)が高い検量線をマツタケ試料の定量に採用することとした。ただし、Net / BG を用いた場合にはドリフト標準化の必要がなく安定した値が得られるため、この値を用いた検量線で高い r が得られた場合には、Net / BG を積極的に採用することとした。

Fe については 3 種類の測定値のいずれを用いても検量線の r が高く、この中でも Net / BG を用いた検量線が Net を用いた場合と同様に高い r となった(図 2)ことから、Net / BG をマツタケ試料の分析に採用することとした。Na についても Fe と同様に 3 種類の測定値のいずれを用いても検量線の r が高かったが、Net / BG を用いた検量線の r が他に比べて低かった(図 3)ことから raw を採用することとした。また、マツタケ中の濃度が使用した SRM の中でも低い範囲に入ったことから、マツタケ中の濃度に近い SRM を用い引いた検量線を用いることとした。他に N と S も 3 種類の測定値のいずれを用いても検量線の r が高かった。r が最も高い、N は Net を、S は Net / BG を採用することとした。

Mg については raw と Net を用いた検量線の r は高かったが、Net / BG は低くなった(図 4)ことから高い r となった Net を採用することとし、マツタケ中の濃度を勘案して 0 点を通過する検量線で定量することとした。他に P も Net / BG を用いた検量線の r が低く、raw を採用することとした。Net / BG を用いた検量線のみ r が低い結果となった原因は明らかでないが、BG は対象元素のピーク前後の散乱線強度(図 1 の BG1 と BG2)から類推するため、これらの位置に他のピークが存在するなどの理由により実際の BG が

正確に求められていないことに起因しているのかもしれない。

CaについてはNet/BGを用いた検量線が直線にはならず曲線になった(図5)。rawとNetを用いた検量線は高いrとなったことからNetを採用することとし、マツタケ中の濃度を勘案して0点を通過する検量線で定量することとした。他にClとKも同様の傾向となり、両元素ともrawを採用することとした。Net/BGを用いた検量線が、濃度が高くなるに連れて頭打ちになる対数型の曲線になった原因としては、これらの元素のピーク強度が高くBG1とBG2の位置にもピークのすそ野が及んでしまっていたことが考えられた。rawに対してBGが低く、rawが高くなるに連れてすそ野も高くなるため、対数型の曲線になったと考えられる。ピークから十分に離れた位置をBG1とBG2の位置とすれば、この問題は解決されると推測される。

以上のようにして17元素について最適な蛍光X線測定値とマツタケの定量に用いる検量線を検討し、表7に補正方法として示すとおり決定した。N、Na及びPを除いて r^2 が0.96以上となり、異なる植物体にもかかわらず直線に載る結果となった。また、同一のマツタケ成型試料を7回繰り返し測定することで、蛍光X線測定の検出限界を求め(表7)、SRMの分析値と検量線から計算される定量値との偏差の標準偏差から正確度を求めた(表7)。

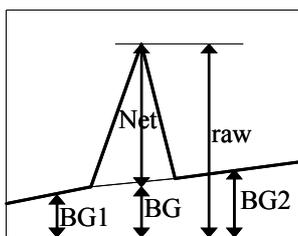


図1 蛍光X線測定値の取り方

ドリフト標準化したraw強度(raw)、ドリフト標準化したNet強度(Net)、Net強度/BG強度(Net/BG)を使用した。

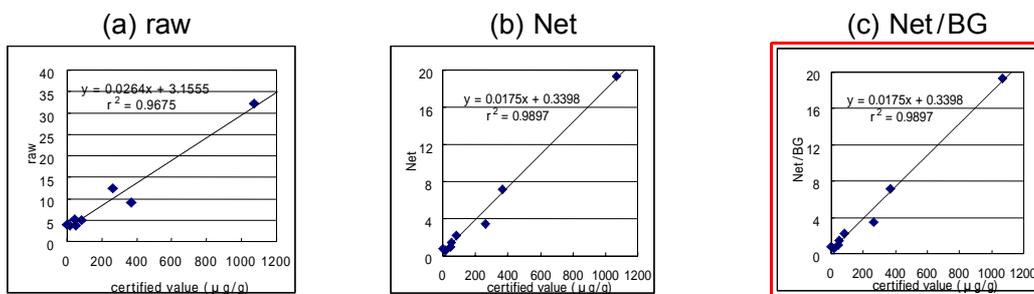


図2 Feの認証標準物質の認証値と3種類の蛍光X線測定値を用いて作成した検量線枠に囲った検量線を採用した。

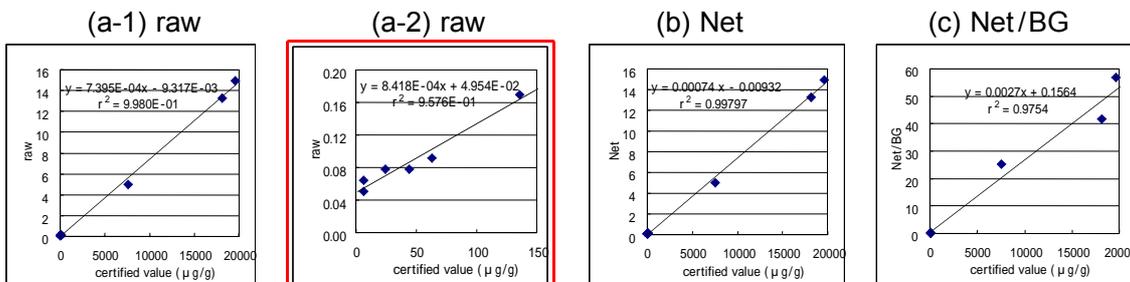


図3 Naの認証標準物質の認証値と3種類の蛍光X線測定値を用いて作成した検量線枠に囲った検量線を採用した。

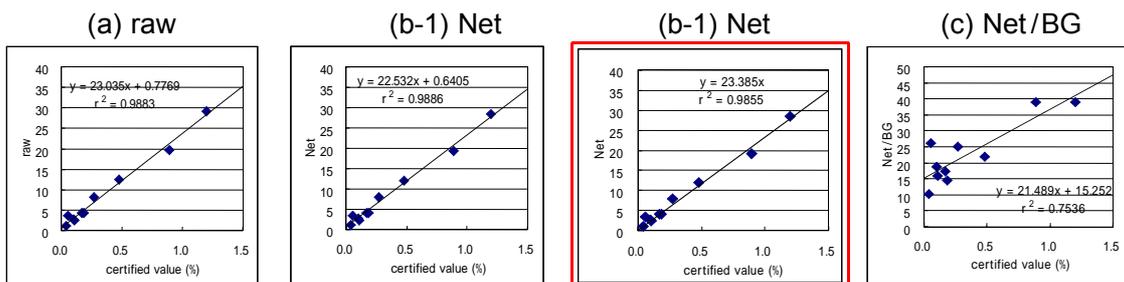


図4 Mgの認証標準物質の認証値と3種類の蛍光X線測定値を用いて作成した検量線枠に囲った検量線を採用した。

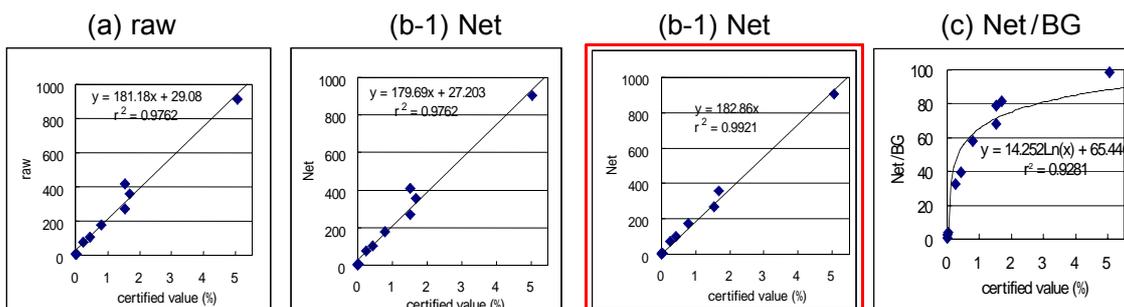


図5 Caの認証標準物質の認証値と3種類の蛍光X線測定値を用いて作成した検量線枠に囲った検量線を採用した。

3.2 分析精度

決定した測定条件の精度を確認するため SRM Bush Branches and Leaves を用いて、同一の成型試料の7回繰り返し測定(repeatability)試験と、別々に5試料成型し、それぞれの表裏を測定する(reproducibility)試験を行った。検出限界未満のSeを除いて、repeatabilityは7%以下、reproducibilityは9%以下と高い精度が得られた(表8)。

表8 SRM Bush Branches and Leavesを用いた repeatability試験と reproducibility試験の結果

元素	認証値	元素濃度の単位	repeatability			reproducibility		
			平均値	標準偏差	相対標準偏差 (%)	平均値	標準偏差	相対標準偏差 (%)
N	1.5	%	1.24	0.25	5.2	1.20	0.27	5.0
Na	1.96	%	2.02	926	4.6	1.75	891	6.3
Mg	0.48	%	0.59	0.03	4.7	0.51	0.025	4.8
Al	2000	µg/g	1960	33	1.7	1810	126	7.0
Si	0.60	%	0.69	0.03	3.7	0.64	0.06	9.2
P	0.100	%	0.096	0.005	5.2	0.081	0.005	6.3
S	0.73	%	0.71	0.02	2.3	0.67	0.02	2.4
Cl	1.92	%	2.42	0.09	3.8	1.97	0.04	2.0
K	0.92	%	0.88	0.03	3.3	0.81	0.03	3.4
Ca	1.68	%	2.06	0.05	2.4	1.92	0.06	3.4
Fe	1070	µg/g	1120	25	2.2	1070	18	1.6
Cu	6.6	µg/g	6.6	0.3	4.5	6.5	0.3	4.3
Zn	55	µg/g	62.2	1.3	2.1	58.9	1.7	2.8
Se	0.12	µg/g	-0.091	0.018	-20.2	0.06	0.09	142.2
Br	3.0	µg/g	3.70	0.17	4.6	3.53	0.15	4.3
Rb	4.5	µg/g	3.48	0.23	6.6	3.26	0.27	8.5
Sr	246	µg/g	264	3	1.2	247	11	4.4

3.3 蛍光X線分析とICP分析による分析値の比較

既報の研究の中で ICP-OES 及び ICP-MS により一部元素の定量値を得ている乾シイタケの粉碎乾燥試料 2種類について蛍光X線分析を行い、分析値を比較した(表9)。概ね一致した結果が得られたが、Mg と P の分析値に若干違いがあった。Mg についてはシイタケ中の濃度が使用した SRM のうち低い濃度領域にあり、この濃度範囲では検量線への一致が低く、正確な定量ができていなかったと考えられる。P についてはシイタケ中の濃度が SRM の濃度範囲(0.10~0.518 %)より高いか、かろうじて範囲内であったため、正確な定量ができていなかった可能性がある。

同様に、既報の研究の中で ICP-OES 及び ICP-MS により一部元素の定量値を得ている北海道、兵庫県、佐賀県及び中国産タマネギの粉碎乾燥試料について蛍光X線分析を行い、分析値を比較した(表10)。中国産タマネギの Na と Mg の分析値の一致が悪かったが、Na に関しては検量線から外れていたことが原因と考えられた。Mg については、原因は明らかにならなかった。乾シイタケと同様に P についても一致が良くなかったが、やはり原因は明らかにならなかった。

一部、両分析の定量値の一致が良くないケースもあったが概ね一致した結果が得られ、異なる植物体の SRM を使用して作成した検量線を用いても、ある程度正確な分析値が得られることが示された。ただし、より正確な分析値を得るには対象植物の元素濃度に近い標準品を検量線作成のために用いる必要があるものと考えられた。

今回は検量線法による定量を試みた。Fundamental Parameter (FP)法により植物試料を高い正確さで定量している報告もあるので、今後はこの方法による定量を検討する余地があるであろう。

表9 蛍光X線分析とICPによるシイタケの分析値の比較

元素	試料1		試料2		単位
	蛍光X線	ICP	蛍光X線	ICP	
N	2.1		3.0		%
Na	94	87	111	98	µg/g
Mg	0.077	0.117	0.090	0.126	%
Al	85	67	139	128	µg/g
Si	ND		0.037		%
P	0.48	0.610	0.65	0.728	%
S	0.36		0.49		%
Cl	0.09		0.09		%
K	2.4	2.58	3.0	3.12	%
Ca	0.016	0.019	0.008	0.011	%
Fe	66	57	72	59	µg/g
Cu	8	8.4	9	10.2	µg/g
Zn	72	79.3	64	66.9	µg/g
Se	ND		ND		µg/g
Br	0.5		0.7		µg/g
Rb	32	36	46	58	µg/g
Sr	0.8	0.68	ND	0.68	µg/g

表10 蛍光X線分析とICPによるタマネギの分析値の比較

元素	北海道産		佐賀県産		兵庫県産		中国産		単位
	蛍光X線	ICP	蛍光X線	ICP	蛍光X線	ICP	蛍光X線	ICP	
N	1.4		0.7		ND		0.5		%
Na	96	111	82	101	72	77	162	241	μg/g
Mg	0.084	0.100	0.070	0.088	0.068	0.084	0.118	0.163	%
Al	ND		ND		ND		ND		μg/g
Si	ND		ND		ND		ND		%
P	0.263	0.300	0.224	0.284	0.255	0.298	0.231	0.293	%
S	0.33		0.24		0.21		0.30		%
Cl	0.08		0.10		0.09		0.10		%
K	1.8		1.5		1.7		1.5		%
Ca	0.190		0.157		0.126		0.137		%
Fe	ND		ND		ND		ND		μg/g
Cu	ND		3		ND		5		μg/g
Zn	17	17.6	13	13.9	12	13.0	5	7.1	μg/g
Se	ND		ND		ND		ND		μg/g
Br	7		1.9		2.9		1.1		μg/g
Rb	9.5	9.0	1.6	1.2	2.7	2.6	5.5	5.5	μg/g
Sr	5.1	7.6	4.5	6.1	1.8	3.6	17.0	21.0	μg/g

3.4 マツタケ試料の分析

設定した分析条件でマツタケの17元素を対象に定量分析を行った。一部元素については分析法の真度の確認はしていないが、本手法が農水産物の原産地判別に応用可能か否か可能性を明らかにするために行った。表11にその結果を示す。メキシコ産は今回4試料のみであったため、日本産との間で1%水準での有意差は確認されなかった。他の産地については、日本から地理的に離れているほど有意差のある元素の数が多く、元素組成の違いが大きくなる結果が得られた。

表11 マツタケの定量分析結果

元素	日本 (n=44)		韓国 (n=22)		北朝鮮 (n=22)		中国 (n=28)		トルコ (n=15)		メキシコ (n=4)		単位				
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD					
N	2.60	0.78	2.89	0.50	3.26	0.48	**	2.95	0.59	2.95	0.39	2.71	0.42	%			
Na	99	179	64	27	142	234		105	40	68	33	209	70	μg/g			
Mg	0.052	0.010	0.053	0.012	0.054	0.008		0.060	0.010	**	0.070	0.008	**	0.069	0.013	%	
Al	100	117	230	323	180	114		213	123	**	267	121	**	140	112	μg/g	
Si	0.028	0.020	0.081	0.100	0.048	0.029	**	0.069	0.044	**	0.101	0.048	**	0.078	0.041	%	
P	0.310	0.090	0.336	0.092	0.404	0.074	**	0.437	0.090	**	0.487	0.080	**	0.366	0.062	%	
S	0.180	0.035	0.203	0.039	0.193	0.036		0.207	0.042	**	0.207	0.036		0.230	0.030	%	
Cl	0.07	0.04	0.05	0.03	0.05	0.03		0.04	0.02		ND		**	0.05	0.01	%	
K	3.44	0.48	3.69	0.48	3.58	0.41		3.92	0.52	**	4.20	0.688		3.62	0.03	%	
Ca	0.008	0.004	0.013	0.006	**	0.013	0.007	0.022	0.009	**	0.040	0.014	**	0.014	0.006	%	
Fe	154	68	233	122	**	217	75	**	272	168	**	357	115	**	232	59	μg/g
Cu	24	7	20	8		18	5	**	26	14		19	6	**	19	4	μg/g
Zn	70	20	76	16		73	24		79	21		53	10	**	111	22	μg/g
Se	7.8	4.8	5.4	2.3	**	4.8	1.9	**	4.7	4.4	**	5.2	2.1		4.8	2.0	μg/g
Br	1.3	1.3	0.3	0.5		0.8	0.6		ND		**	ND		**	1.8	0.7	μg/g
Rb	210	138	196	138		175	120		151	133		87	38	**	264	67	μg/g
Sr	ND		0.2	0.7		ND			0.7	1.1		ND			0.3	0.5	μg/g

** 日本との間で1%の水準で有意

3.5 原産国の判別

外見では判別が難しい東アジア(日本, 韓国, 北朝鮮, 中国)産マツタケの原産国を判別するため、4産地に分類する4群の線型判別分析を行った。Mg, Si, P, K, Ca及びCuから成る判別関数を構築したが、各産地の分類的中率は45~82%と低い結果となった(表12)。一度に4産地に分類した場合には誤判別が多くなることが明らかになった。

一般に線型判別分析では、複数の産地を一度に分類するよりも、二つの産地間で分類する方が分類的中率が高くなる。そこで、日本 日本以外の東アジア(韓国, 北朝鮮, 中国)間で分類する線型判別分析を行った。Mg, Si, P, K, Ca及びCuから成る判別関数を構築し、分類したところ、国産は93%、日本以外の東アジア産は90%の的中率で分類された。10-fold cross validationによりこの判別関数の精度を見積もった結果、国産は89%、日本以外の東アジア産は82%の的中率となった。スクリーニング判別としてなら使えるレベルの判別関数を構築できた。

2007年時点で北朝鮮からのマツタケの輸入は禁止されている。しかし、北朝鮮産マツタケが中国あるいは韓国を経由してこれら産地産として日本に入ってきているとのうわさがある。また、中国産を韓国産と偽装して販売される可能性もある。これら産地間で判別する手法の開発も求められていることから、日本以外の東アジア(韓国, 北朝鮮, 中国)間での判別を試みた。このため、韓国 - 北朝鮮、韓国 - 中国及び北朝鮮 - 中国間で分類する線型判別分析をそれぞれ行い、判別関数を構築した。10-fold cross validationによりこれらの判別関数の精度を見積もった結果、77~86%の精度が得られた(表12)。これら判別関数を用い、二つの判別関数で同じ原産国と判別された場合にその原産国に判定すると基準を定めると、韓国, 北朝鮮及び中国の判別的中率はそれぞれ、64%, 68%及び71%となり、誤判別はゼロ、残りは判定不能という結果となった。誤判別を少なくするような基準にしたため判別の中率は高くはないが、十分に検査に使えるレベルであると考えられた。

表11 4群の線型判別分析による東アジア産マツタケの分類結果

国名	n	分類的中率 (%)	分類結果			
			日本	韓国	北朝鮮	中国
日本	43	82	36	2	5	1
韓国	22	45	5	10	5	2
北朝鮮	22	73	2	3	16	1
中国	28	64	0	2	8	18

表12 韓国-北朝鮮、韓国-中国及び北朝鮮-中国間で分類する線型判別関数とcrossvalidationによるそれらの判別の中率

対象国	対象元素	原産国	crossvalidationによる判別の中率 (%)
韓国 - 北朝鮮	Al, Si, P, K, Zn	韓国	82
		北朝鮮	77
韓国 - 中国	Na, P, K, Ca, Se, Rb	韓国	82
		中国	86
北朝鮮 - 中国	N, K, Ca	北朝鮮	86
		中国	79

3.6 蛍光X線分析による原産地判別の可能性

蛍光X線分析を農産物等の原産地判別に利用する研究として、乾シイタケ³⁾とホウレンソウ⁴⁾について報告された。いずれもエネルギー分散型の装置を用いており、前者の研究では多元素の定量値ではなく、対象元素のピークと散乱線との強度比を用いている。検査等に利用するには安定したピーク強度比が得られることを示す必要がある。また、シイタケでは1個体の判別が求められるのに対し、報告では乾燥試料5gが使用された。より少ない試料量で分析できることも求められる。後者の研究では試料量が0.3gと少ないため、測定時間は2時間と長いが、本研究と同様に数種類の認証標準物質を用いて検量線を引くことにより高い真度で19元素を定量した。試料は群馬県と岐阜県産各10試料ずつと少ないが、主成分分析で分かれており、判別できる可能性が得られた。

これらの報告及び本研究から、対象品目の元素濃度に近い濃度の認証標準物質を用いて検量線を引けば高い真度で定量でき、蛍光X線分析を農水産物等の原産地判別に利用できると考えられる。他にFP法による定量値やピーク強度比を利用する方法も検討の余地がある。蛍光X線分析による農水産物を対象とした多元素の定量分析はまだ一般に行われていないため、本研究や他の報告を参考に正確な定量値又は安定した強度比を得られる方法を開発することが蛍光X線分析を原産地判別に利用するには必要となる。

4. まとめ

- 1) 波長分散型の蛍光X線分析装置により10種類の認証標準物質を用いて17元素(N, Na, Mg, Al, Si, P, S, Cl, K, Ca, Fe, Cu, Zn, Se, Br, Rb及びSr)を対象に検量線を引いたところ、14元素について高い相関係数($r^2 = 0.96$)が得られたことから、この検量線を用いた分析条件を設定した。
- 2) 設定した分析条件で、既に他の分析法で一部元素の定量値が得られている乾シイタケとタマネギ試料の定量を行ったところ、一部を除いて良好な結果が得られた。
- 3) 日本 日本以外の東アジア(韓国, 北朝鮮, 中国)間で原産地を判別するため、Mg, Si, P, K, Ca及びCuの6元素濃度から成る判別関数を構築した。この判別関数の精度を10-fold cross validationにより確認した結果、国産品は89%、日本以外の東アジア産は82%の的中率が得られ、スクリーニングには使えるレベルであると判断できた。
- 4) 蛍光X線分析を農水産物等の原産地判別に利用できることが示された。

5. 文献

- 1) 門倉雅史、他、*日本食品化学工学会誌*、**53**、489-497 (2006)
- 2) Ariyama, K; et al, *J. Agric. Food Chem.*, **55**, 347-354 (2007)
- 3) 森良種、他、*日本食品科学工学会第54回大会講演* (2007)。
- 4) 築田陽子、他、*分析化学*、**56**、1053-1061 (2007)。