

# 原木栽培乾しいたけの元素分析とストロンチウム安定同位体比分析の組み合わせによる原料原産地判別法の検討

石井 修人, 箱田 晃子

Shuto Ishii, Akiko Hakoda

## 要 約

独立行政法人農林水産消費安全技術センター (FAMIC) が平成 18 年に開発した元素分析による原木栽培乾しいたけの原料原産地判別法の判別精度を向上させることを目的として検討を行った。その結果、元素分析と Sr 安定同位体比分析を組み合わせることで、元素分析単独による産地判別法と比較して判別精度が向上することを確認した。

## 1. はじめに

食品表示法 (平成 25 年法律第 70 号) に基づき定められた食品表示基準 (平成 27 年内閣府令第 10 号) には、食品を販売する際に表示しなければならない表示事項やその表示の方法が規定されており、乾しいたけにおいては、栽培方法 (原木栽培品にあつては「原木」、菌床栽培品にあつては「菌床」) 及び原料原産地などを表示することが義務付けられている。

平成 26 年における乾しいたけの輸入量は国産生産量の約 1.6 倍と、輸入量の割合が高い状況である。また、輸入品のほぼ 100 %が中国産であり、輸入品の価格は国産品の 3 割程度と輸入品に比べ国産が高い傾向にある<sup>1)2)</sup>。このことから、中国産乾しいたけを国産乾しいたけと偽装表示して販売する事例が指摘され、表示の真正性を客観的に検証する科学的技術の開発が求められてきた。

食品における産地の科学的検証法は、元素分析、軽元素安定同位体比分析及び Sr 安定同位体比分析を利用した方法が報告されている<sup>3 ~ 5)</sup>。これらの方法は、土壌や水質等の違いがそこで栽培された農産物の元素濃度や安定同位体比に影響を与えることを利用した産地判別法である。乾しいたけにおいても、元素分析及び Sr 安定同位体比分析による栽培方法及び原料原産地判別法が報告されている<sup>6 ~ 8)</sup>。

そこで、FAMIC においても平成 18 年に元素分析による乾しいたけの栽培方法及び原木栽培品の原料原産地を判別するための手法を検査で使用できるように開発を行った<sup>9)10)</sup>と、栽培方法の判別については高い中率を示した。しかし、原木栽培品の原料原産地の判別については、栽培方法の判別と比較すると低い中率であり、判別精度を向上する必要があった。

そこで本研究では、原木栽培乾しいたけの元素濃度及び Sr 安定同位体比を測定し、元素分析と Sr 安定同位体比分析の組み合わせによる原料原産地判別法について検討した。

その結果、元素分析単独による判別法と比較して判別精度が向上することを確認したので報告する。

## 2. 実験方法

### 2. 1 試料

平成 26～28 年に原木栽培乾しいたけ 77 点（国産 55 点、中国産 22 点）を入手した。国産試料については、試料点数が各県の生産量を反映するように<sup>1)</sup>、商社や農産物直売所等を通じて入手した。県別の試料点数を表 1 に示す。中国産試料については、主要産地である河南省産、陝西省産のものを中心に、商社等を通じて入手した。

表 1 県別の試料点数

県	点数	県	点数	県	点数
岩手	2	石川	1	愛媛	3
宮城	1	山梨	2	高知	1
福島	1	静岡	1	福岡	1
茨城	1	三重	1	長崎	1
栃木	1	鳥取	1	熊本	3
群馬	1	島根	1	大分	20
埼玉	1	岡山	1	宮崎	7
新潟	1	山口	1	鹿児島	1

### 2. 2 試薬

試料の分解には、61 %高純度電子工業用硝酸（関東化学）、70 %過塩素酸（TAMAPURE-AA-100、多摩化学工業）及び 48 %フッ化水素酸（Ultrapur-100、関東化学）を使用した。Sr の精製には、Sr レジン（50-100 $\mu$ m、eichrom technologies）を用いた。元素濃度測定用の検量線用混合標準溶液は、単元素標準溶液（メルク、シグマアルドリッチ、AccuStandard）を適宜希釈して調製した。また、In の単元素標準溶液を内標準溶液として希釈調製し、検量線用混合標準溶液及び試料溶液に添加した。Sr 安定同位体比測定用の標準溶液は、NIST の認証標準物質 Strontium Carbonate SRM987 を溶解し、適宜希釈して調製した。水は超純水製造装置（Milli-Q Integral3：メルクミリポア）により製造した超純水（比抵抗値 > 18 M $\Omega$ ・cm）を用いた。

### 2. 3 装置

元素濃度の測定には、誘導結合プラズマ発光分析装置（ICP-OES）（icap6300：Thermo Fisher Scientific）及び誘導結合プラズマ質量分析装置（ICP-MS）（Agilent 7500cx：Agilent Technologies）を使用した。Sr 安定同位体比の測定には、高分解能型誘導結合プラズマ質量分析装置（HR-ICP-MS）（ELEMENT XR：Thermo Fisher Scientific）を使用した。

### 2. 4 分析

試料調製及び酸分解は法邑ら<sup>10)</sup>の方法に従って行った。

#### 2. 4. 1 試料調製

試料 1 点につき 1 個体を抜き取り、柄部と傘裏面のヒダ部を除去後、105 °C で 2 時間乾燥した。乾燥後にポリエチレン製袋に入れ、袋の上から乳棒で叩いて粉碎したものを粉碎試料とした。

#### 2. 4. 2 酸分解

粉碎試料約 0.5 g を 61 %硝酸 10 mL、70 %過塩素酸 2.5 mL 及び 48 %フッ化水素酸 2 mL で酸分解し、蒸発乾固させた。残留物を 1 %硝酸で 50 mL に定容し、元素濃度測定用試料溶液とした。内標準用の In は定容後の濃度が 10 µg/L となるように添加した。試料は全て 2 点併行で分析した。

#### 2. 4. 3 元素濃度測定

ICP-OES を用いて検量線法により Na、Mg、P、K、Ca、Mn、Zn、Sr 及び Ba の 9 元素の元素濃度測定した。また、ICP-MS を用いて内標準法により Co、Cu、Rb、Mo、Cd、Cs、La、Ce 及び Nd の 9 元素の元素濃度を測定した。

#### 2. 4. 4 Sr 精製

Sr 安定同位体比測定を阻害する Rb を除去する目的で Sr レジンを用いた精製を行った。

Sr レジンはカラム管に充填し、8 M 硝酸でコンディショニングを行った。元素分析測定用試料溶液を蒸発乾固させ、残留物を 8 M 硝酸 6 mL に溶解し、コンディショニングを行った Sr レジンに負荷した。8 M 硝酸 3 mL を加えて Sr レジンを洗浄後、0.05 M 硝酸 2 mL を加えて Sr を溶出させ、溶出液を Sr 安定同位体比測定用試料溶液とした。

#### 2. 4. 5 Sr 安定同位体比測定

HR-ICP-MS を用いて exponential law を用いた内部補正法<sup>11)</sup>により Sr 安定同位体比を測定した。

### 2. 5 元素分析判別モデルの構築

2. 4. 3 で得られたデータを元素分析判別モデルの構築に用いた。各試料 2 点併行で測定した結果からランダムに 1 点選択した粉碎試料中元素濃度、粉碎試料中元素濃度の常用対数を説明変数として、線形判別及びサポートベクターマシン (SVM) により判別モデルを構築した。線形判別は R 3.1.3 の MASS パッケージを使用し、SVM は e1071 パッケージを使用した。

解析は中村ら<sup>12)</sup>の方法に従った。構築した判別モデルの未知試料に対する的中率は、判別モデル構築用試料を用いた Leave-one-out cross validation (LOOCV) により確認した。できるだけ少ない元素数で高い的中率が得られるモデルを最適な判別モデルとして選択した。

### 2. 6 元素分析と Sr 安定同位体比分析の組み合わせ判別モデルの構築

各試料の 2. 5 で得られた元素分析判別得点及び 2. 4. 5 で得られた Sr 安定同位体比を説明変数として、2. 5 と同様の方法で判別モデルを構築した。

## 3. 結果及び考察

### 3. 1 試料の元素組成

18 元素の粉碎試料中元素濃度を統計解析に用いた。各産地の乾燥試料中元素濃度を表 2 に示す。

表 2 各産地の粉碎試料中元素濃度 (mg/kg)

	国産原木栽培乾しいたけ (n=55)			中国産原木栽培乾しいたけ (n=22)		
	平均値	標準偏差		平均値	標準偏差	
Na	55	± 25		51	± 17	
Mg	959	± 158		1165	± 216	
P	2548	± 957		2520	± 712	
K	19190	± 3800		17464	± 3976	
Ca	82	± 35		187	± 105	
Mn	11.9	± 3.8		14.5	± 4.4	
Zn	24.5	± 8.8		20.0	± 5.9	
Sr	0.37	± 0.23		0.61	± 0.38	
Ba	0.52	± 0.32		0.91	± 0.38	
Co	0.024	± 0.024		0.078	± 0.054	
Cu	4.7	± 2.7		4.4	± 1.9	
Rb	67	± 39		30	± 18	
Mo	0.027	± 0.024		0.096	± 0.065	
Cd	0.60	± 0.68		0.36	± 0.25	
Cs	0.50	± 0.49		0.43	± 0.53	
La	0.0060	± 0.0048		0.030	± 0.022	
Ce	0.0102	± 0.0088		0.059	± 0.040	
Nd	0.0050	± 0.0043		0.025	± 0.017	

既報<sup>9)</sup>と比較すると、粉碎試料中元素濃度の変動が大きい元素は、国産は La、Ce、Nd で濃度が約半分、中国産は Cd で濃度が約 1/3 になっていた。国産、中国産共に、残りの元素は、濃度がほぼ同等又はわずかに減少していた。既報から 10 年以上が経過しているが、全体として元素濃度の変動が小さかった。

### 3. 2 元素分析判別モデルの構築

国産 55 点、中国産 22 点の計 77 点を解析して判別モデルを構築した。その結果、最適な判別モデルとして、K、Mg、Na、P、Sr 及び Mo の粉碎試料中元素濃度の常用対数を説明変数とする判別モデルが得られた (式 1)。

$$X = 12.40 \times \log_{10}[K] - 11.07 \times \log_{10}[Mg] - 0.22 \times \log_{10}[Na] - 3.36 \times \log_{10}[P] - 2.29 \times \log_{10}[Sr] - 2.97 \times \log_{10}[Mo] - 12.07 \quad \dots (式 1)$$

ここで、[K]、[Mg]、[Na]、[P]、[Sr] 及び [Mo] はそれぞれの元素の粉碎試料中濃度 (mg/kg) を示す。LOOCV により得られた判別得点 X のヒストグラムを図 1 に示す。判別得点 X が正の場合は国産、負の場合は中国産と判別した。この判別モデルでは、モデル構築に用いた試料のうち、国産試料の 91 %、中国産試料の 86 % を正しく判別した (表 3)。

なお、既報<sup>10)</sup>の判別モデルは、国産 94 ~ 97 %、中国産 72 ~ 81 % を正しく判別する判別モデルであったため、今回の判別モデルは、国産では的中率がやや低くなっているも

の、中国産では高くなっており、全体としてはほぼ同程度の的中率となった。

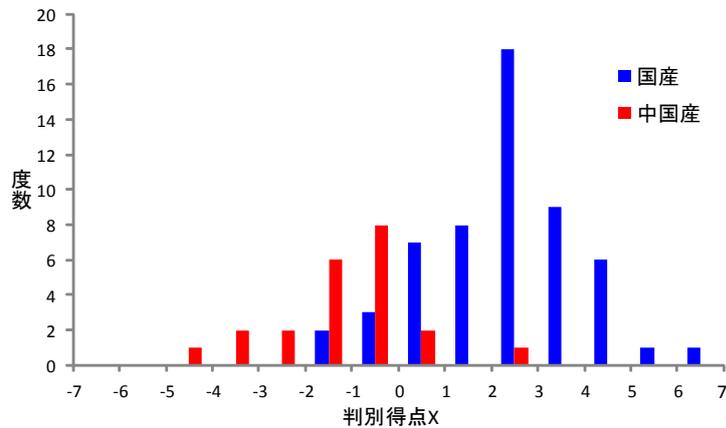


図 1 構築した元素分析判別モデルの LOOCV 判別得点のヒストグラム

### 3. 3 Sr 安定同位体比分析単独での判別

Sr 安定同位体比分析単独での判別精度を確認した。Sr 安定同位体比が 0.710 以下の場合には国産、0.710 より大きい場合は中国産と判別すると、モデル構築に用いた試料のうち、国産試料の 93 %、中国産試料の 95 %を正しく判別した (表 3)。

### 3. 4 元素分析とSr安定同位体比分析の組み合わせ判別モデルの構築

国産 55 点、中国産 22 点の計 77 点を解析して判別モデルを構築した。その結果、最適な判別モデルとして、元素分析判別モデルによる判別得点 X を説明変数とする判別モデルが得られた (式 2)。

$$Y = 0.529 \times X - 465.2 \times (^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}) + 330.17 \quad \dots \text{(式 2)}$$

ここで、X は元素分析判別モデルによる判別得点 X を、( $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ) は Sr 安定同位体比を示す。LOOCV により得られた判別得点 Y のヒストグラムを図 2 に示す。判別得点 Y が正の場合は国産、負の場合は中国産と判別した。この判別モデルでは、モデル構築に用いた試料のうち、国産試料の 98 %、中国産試料の 95 %を正しく判別した (表 3)。また、今回判別モデル構築に使用した国産 55 点、中国産 22 点の元素分析による判別得点 X と Sr 安定同位体比の散布図を図 3 に示す。

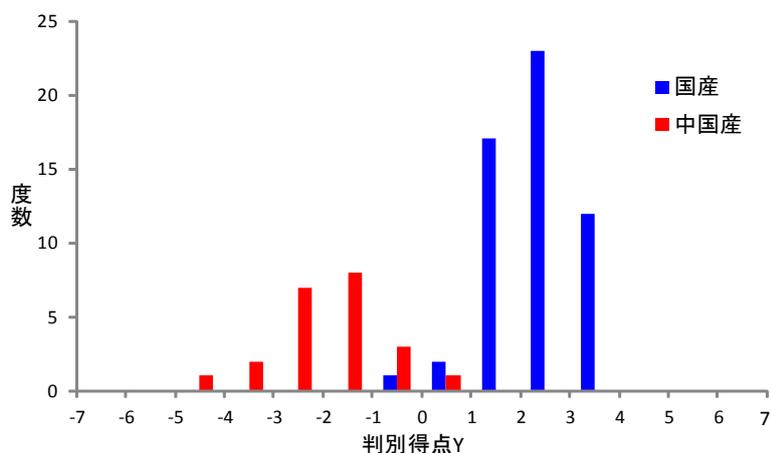


図2 構築した組み合わせ判別モデルの LOOCV 判別得点のヒストグラム

表3 LOOCVによる構築した判別モデルのモデル構築用試料の的中率

産地	元素分析	Sr安定同位体比	→	元素分析とSr安定同位体比 分析の組み合わせ
	的中率	的中率		的中率 (%)
国産	91% (50/55)	93% (51/55)		98% (54/55)
中国産	86% (19/22)	95% (21/22)		95% (21/22)

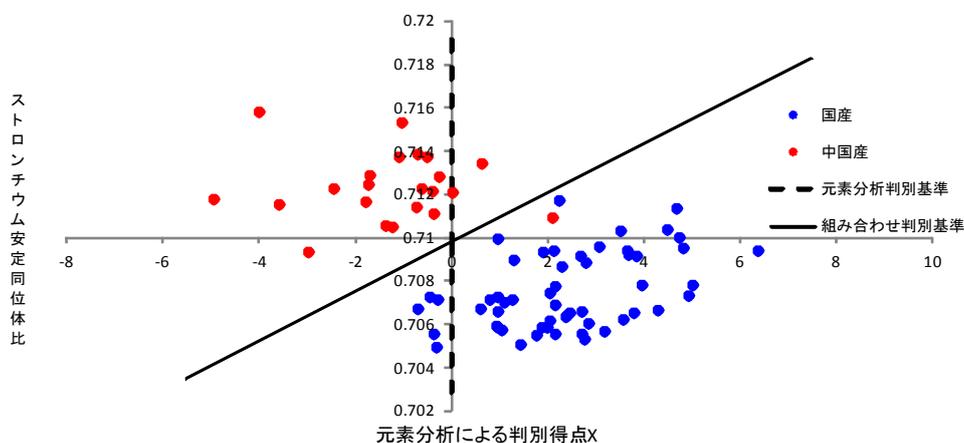


図3 判別モデル構築に使用した試料の判別得点XとSr安定同位体比の散布図

元素分析と Sr 安定同位体比分析を組み合わせると、各分析単独の場合に比べて国産と中国産の分布の重なり部分が少なくなり、より高い判別精度を有する判別法となることがわかった (図3)。また、LOOCV によるモデル構築用試料の的中率も、各分析単独の場合から大きく向上することがわかった (表3)。

#### 4. まとめ

本研究では、元素分析による原木栽培乾しいたけの原料原産地判別モデルを再構築した。さらに、元素分析とSr安定同位体比分析を組み合わせることで、各分析単独による判別法と比較して高い判別精度を有する判別法となることを確認した。この組み合わせによる判別モデルのモデル構築用試料の的中率は国産 98 %、中国産 95 %と、既報よりの中率が向上した。

今後、栽培地、輸入先の変化などにより判別モデルの判別能力が変化していくことがあるため、定期的に由来の確かな試料を用いて、判別モデルの検証を行うことが望まれる。

なお、本判別法を使用するに際しては、特許<sup>8)</sup>使用許諾を得る必要がある。

#### 5. 謝 辞

本研究を実施するにあたり、試料収集のご協力やご助言をいただきました一般財団法人日本きのこセンターの時本景亮様及び一般財団法人日本きのこ研究所の赤石博様をはじめ、ご協力やご助言をいただきましたすべての皆様に感謝を申し上げます。

#### 6. 文 献

- 1) 農林水産省 特用林産基礎資料
- 2) 財務省 貿易統計
- 3) 船木紀夫, 服部賢志, 木村康晴, 佐藤耕一, 塚田政範, 津村明宏, 佐藤雅敏, 豊田正俊, 小塚健志, 門倉雅史, 法邑雄司: 無機元素分析によるゴボウの原産国判別, 日本食品科学工学会誌, 57(2), 70-77(2010)
- 4) 門倉雅史, 法邑雄司, 渡邊裕之, 堀田博, 鈴木忠直, 安井明美, 無機元素組成によるカボチャの原産地判定技術: 日本食品科学工学会誌, 57(2), 78-84(2010)
- 5) 鈴木彌生子, 中下留美子, 河邊亮, 北井亜希子, 富山眞吾: 炭素・酸素安定同位体比分析による青森県産および中国産リンゴの産地判別の可能性, 日本食品科学工学会誌, 59(2), 69-75(2012)
- 6) 時本景亮: 日本産乾シイタケと中国産乾シイタケとを判別する手法の開発, 菌蕈, 48, 10-14(2002)
- 7) 時本景亮: 「ストロンチウム同位体比を用いる乾シイタケの原産国判別法」の開発を終えて, 菌蕈, 57, 16-22(2011)
- 8) 乾燥椎茸判別方法, 特許第 3485309 号
- 9) 門倉雅史, 臼井裕一, 有山薫: 無機元素分析による乾シイタケの原料原産地および栽培方法の判別, 日本食品科学工学会誌, 53(9), 489-497(2006)
- 10) 法邑雄司: 無機分析による乾しいたけの栽培方法及び原料原産地判別法の再検討, 農林水産消費安全技術センター調査研究報告, 33, 1-7(2009)
- 11) 篠崎美由起, 有山薫, 川崎晃, 平田岳史: 単一検出器型高分解能誘導結合プラズマ質量分析装置を用いる穀物のストロンチウムと鉛の同位体比分析, 分析化学, 59(11),

1003-1011 (2010)

- 12) 中村哲, 法邑雄司, 豊田正俊: ゴボウの原産地判別の試料調製法の再検討, 農林水産消費安全技術センター調査研究報告, 37, 1-10 (2013)