

ネギのストロンチウム安定同位体比分析による 原産地判別法の検討

後藤 祐之介¹, 伊澤 淳修¹, 申 基澈², 中野 孝教²

Yunosuke Gotou, Atsunobu Izawa, Ki-Cheol Shin, Takanori Nakano

要 約

国産（日本産）及び中国産の生鮮ネギについて、Sr 安定同位体比（⁸⁷Sr/⁸⁶Sr）による原産地判別法を検討した。

収集した生鮮ネギ試料（国産 64 試料、中国産 38 試料）の Sr 安定同位体比を測定し、Receiver Operating Characteristic (ROC) 曲線により判別基準を設定した結果、国産ネギ 64 試料中 60 試料、中国産ネギ 38 試料中 23 試料の原産地を正しく判別した。

Sr 安定同位体比分析と元素分析の組み合わせによる原産地判別法を検討するために、まず、試料に含有する 6 元素（Mg、P、Ca、Co、Rb、Sr）を説明変数とした線形判別分析を行った結果、国産ネギ 64 試料全て、中国産ネギ 38 試料中 33 試料の原産地を正しく判別した。次に Sr 安定同位体比と元素分析の結果を 2 変数として線形判別分析を行ったところ、国産ネギ 64 試料全て、中国産ネギ 38 試料中 35 試料を正しく判別したことから、Sr 安定同位体比分析に元素分析を組み合わせることで判別精度が向上する可能性があると考えられた。

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、生鮮食品に対しては原産地などを表示することを義務付けている。

平成 27 年における生鮮ネギの国内流通量（輸入量＋国産出荷量）は 44 万トンである¹⁾。そのうち 5.7 万トン¹⁾が外国産で、その 99 %以上が中国からの輸入である。中国産のネギは、日本人の嗜好に合わせて日本で栽培されている品種と同じ品種が栽培されたものであるため、見た目や遺伝学的手法による品種判別では国産か中国産かを判別することは難しく、これらの方法に替わる科学的検証法が求められていた。そこで、水質、土壌などの生育地の環境の違いが動植物中の元素組成に反映されることを利用した元素分析による原産地判別法^{3)~5)}を開発し、平成 17 年に検査マニュアルとして実用化した。しかし、元素分析による原産地判別法の判別精度が必ずしも十分ではなく、より高い判別精度を有する方法の開発が望まれていた。

¹独立行政法人農林水産消費安全技術センター神戸センター

²大学共同利用機関法人人間文化研究機構総合地球環境学研究所

独立行政法人農林水産消費安全技術センター (FAMIC) において、Sr 安定同位体比を利用した野菜水煮加工品の原料原産地判別法について検討したところ、国産と中国産の Sr 安定同位体比間に有意差が認められたと報告している⁶⁾。そこで、大学共同利用機関法人人間文化研究機構 総合地球環境学研究所が所有する二重収束型マルチコレクター誘導結合プラズマ質量分析計 (以下「MC-ICP-MS」という。) を用いて、Sr 安定同位体比分析によるネギの原産地判別法の開発に取り組んだ。また、Sr 安定同位体比分析及び元素分析を組み合わせた原産地判別法について検討したので報告する。

2. 実験方法

2. 1 試料

収集試料の内訳を表 1 に示した。平成 25 年 5 月から 12 月にかけて生鮮ネギ 33 試料 (国産 21 試料、中国産 12 試料)、平成 27 年 6 月から平成 28 年 2 月にかけて生鮮ネギ 69 試料 (国産 43 試料、中国産 26 試料) を収集した。国産試料は国内出荷量の多い 25 道府県の集出荷団体等から入手し、中国産試料は輸入業者等から入手した。また、カット野菜製造業者からカットネギ及びその原料ネギを 7 試料 (国産 3 試料、中国産 4 試料) 入手した。

表 1 収集試料の内訳
生鮮ネギ

産地	試料数	産地	試料数	産地	試料数
千葉	7	静岡	3	宮城	2
埼玉	5	栃木	2	広島	1
茨城	5	秋田	2	岩手	2
北海道	3	神奈川	2	長崎	1
群馬	3	長野	3	兵庫	2
大分	3	山形	2	徳島	1
青森	2	福島	2	富山	2
鳥取	4	鹿児島	2		
新潟	2	京都	1	中国	38

カットネギ及び原料ネギ			
国産	試料数	中国産	試料数
大阪	1	山東省	4
香川	1		
福岡	1		

2. 2 試薬

実験に使用した水は、超純水製造装置 (Milli-Q Element A10、日本ミリポア) で製造した超純水 (比抵抗値>18 MΩ・cm 以上) を用いた。試料の酸分解には、61 %硝酸 (高純度電子工業用、関東化学)、70 %過塩素酸 (TAMAPURE-AA-100、多摩化学工業) を用いた。Sr 安定同位体比測定において、Sr を精製・濃縮するために陽イオン交換樹脂カラム (DOWEX 50W X8 200-400mesh H型、ダウケミカル) を用いた。元素分析の検量線用標準液は単元素標準溶液 (Na、Mg、P、K、Ca、Mn、Fe、Zn、Sr、Ba、Co、Ni、Cu、Rb、Mo、Cd、Cs、La、Ce、Tl 及び In (ICP 測定用内部標準)) を適宜希釈し調製した。

2. 3 装置

収集試料の粉碎には、セラミック刃のミキサー (B-400、日本ビュッヒ) を用いた。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) (725-ES、Varian (現 Agilent Technologies)) 及び誘導結合プラズマ質量分析装置 (ICP-MS) (820MS、Varian (現 Agilent Technologies)) を使用した。Sr 安定同位体比の測定は、大学共同利用機関法人人間文化研究機構総合地球環境学研究所が所有する MC-ICP-MS (Neptune plus、Thermo Fisher Scientific) を用いた。

2. 4 試料調製

各収集試料について、基部から 1 cm を除去し、そこから 10 cm の部位を同重量の超純水とともにミキサーで粉碎した。粉碎試料を樹脂製葉さじを用いて、樹脂製ヒータブルビーカーに 5 g 採取した。

2. 5 酸分解

試料を採取した樹脂製ヒータブルビーカーに 61 %硝酸を 10 mL 加え、樹脂製時計皿でふたをし、120 °C のホットプレート上で加熱した。褐色のガスが発生する激しい反応が収まった後に放冷し、70 %過塩素酸を 2.5 mL 加え、徐々に温度を上げながら 180 ~ 230 °C の範囲で加熱し、分解液が透明かつ無色または薄い黄色になるまで分解した。次にふたを外し、約 230 °C で加熱して乾固した。ビーカーに 1 %硝酸を 5 mL 程度加え、ビーカー内の残留物をホットプレート上で加熱・溶解し、25 mL 容樹脂製全量フラスコに移す操作を 3 回繰り返し、内標準として In を 5 µg/L になるように加え、1 %硝酸で定容後、元素測定用試料溶液とした。

2. 6 カラム処理 (Sr安定同位体比分析)

Sr 安定同位体比分析には、元素測定用試料溶液を陽イオン交換樹脂カラムを用いて Sr の精製・濃縮を行った溶液を用いた。元素測定用試料溶液を樹脂製ヒータブルビーカーに量りとり、200 °C 付近で乾固した。この乾固物を 8 M 硝酸で加温・溶解し陽イオン交換樹脂カラムに負荷した後、0.05 M 硝酸で溶出し Sr 安定同位体比測定用試料溶液とした。

2. 7 測定

Sr 安定同位体比は MC-ICP-MS により表 2 の分析条件で測定した。

Mg、Na、P、K、Ca、Sr、Ba の濃度は、検量線法で ICP-OES により、Mn、Fe、Co、Ni、Cu、Zn、Rb、Mo、Cd、Cs、Tl、La、Ce の濃度は内標準法（内標準：In）で ICP-MS により、表 3 の分析条件で測定した。

表 2 MC-ICP-MSの測定条件

RFパワー	1.2kw
プラズマガスフロー	15 L/min
補助ガスフロー	0.7-0.8 L/min
ネブライザーガスフロー	0.85 L/min
ネブライザー(吸入量)	PFA(100 µL/min)
検出器配置 m/z(cup)	83(L3), 84(L2), 85(L1) 86(C), 87(H1), 88(H2)
測定ブロック数	1
測定サイクル数	30

表 3 ICP-MS及びICP-OESの測定条件

プラズマ条件	ICP-MS	ICP-OES
RFパワー	1.3kw	1.20kw
プラズマガスフロー	15.5 L/min	15 L/min
補助ガスフロー	1.5 L/min	1.5 L/min
ネブライザーガスフロー	0.95 L/min	
ネブライザーガス圧力		200 kPa
ポンプ速度	0.08 rps	15 rpm

2. 8 解析

2. 8. 1 元素データの解析

測定した元素濃度を説明変数として線形判別分析により判別式を構築した。各収集試料について判別得点を算出し、国産試料の誤判別率が最小となる値を産地判別の基準値とした。

2. 8. 2 Sr安定同位体比データの解析

測定した Sr 安定同位体比の分布範囲において、Sr 安定同位体比を産地判別の基準値としたカットオフ値を変化させて、国産ネギを国産と正しく判別する確率（特異度）及び中国産ネギを中国産と正しく判別する確率（感度）を算出し、偽陽性率（1 - 特異度）を横軸、感度を縦軸にプロットした ROC 曲線から基準値を設定した。

2. 8. 3 Sr安定同位体比分析法の適用範囲の検討

Sr 安定同位体比分析による判別法がカットネギにも適用可能であることを検討するため、カット野菜の製造工程（洗浄、切断、殺菌）による影響を確認した。

3. 結果及び考察

3. 1 Sr安定同位体比

3. 1. 1 Sr安定同位体比の測定

収集試料の Sr 安定同位体比の測定結果を表 4 に示した。平均値±標準偏差は、国産（n=64）0.7081 ± 0.0012、中国産（n=38）0.7098 ± 0.0021 となり、国産と中国産間に t 検定で有意差がみられた（ $p < 0.05$ ）。国産の Sr 安定同位体比より中国産が高くなる傾向にあったが、国産の 2 試料（長野県産、鳥取県産）は中国産の平均値より高い値を示し、また、中国産の一部試料は国産の平均値より低い値を示した。

表 4 判別に用いた収集試料中の Sr 安定同位体比

	平均値	標準偏差	RSD%	最大	最小
国産 (n=64)	0.7081	0.0012	0.17	0.7127	0.7054
中国産 (n=38)	0.7098	0.0021	0.30	0.7127	0.7051
A省産 (n=27)	0.7109	0.0013	0.18	0.7127	0.7083
B省産 (n=11)	0.7071	0.0013	0.18	0.7098	0.7051

3. 1. 2 Sr安定同位体比分析法の適用範囲の検討

ネギをはじめとするカット野菜は品質低下を防ぐ目的で、主に次亜塩素酸 Na による原料野菜の洗浄と殺菌が行われている。その影響を確認するために国産 3 試料と中国産 4 試料について、カット処理前の原料ネギとカットネギの Sr 安定同位体比を測定した（図 1）。原料ネギの Sr 安定同位体比は、国産試料より中国産試料が高く、生鮮ネギ収集試料と同

様の傾向であった。原料ネギとカットネギの Sr 安定同位体比を比較したところ、国産試料と中国産試料ともに大きな差はみられなかったことから、カットネギの製造工程による影響は少ないと考えられた。

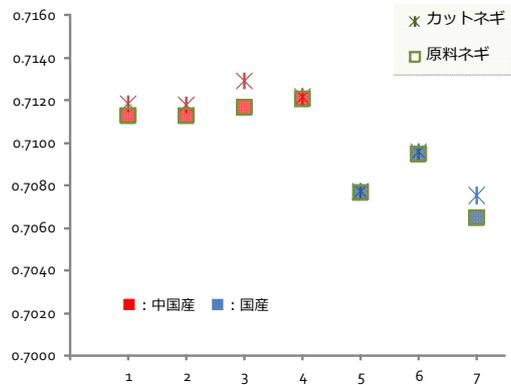


図1 カットネギと原料ネギのSr安定同位体比の比較

3. 1. 3 Sr安定同位体比データの解析

ROC 曲線で偽陽性率が最小 (0)、感度が最大 (1) に最も近い値を産地判別の基準値とした (図2)。得られた基準値は $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$: 0.7095 となり、この基準値において国産試料は 64 試料中 60 試料が国産と判別され、中国産の平均値より高かった 2 試料 (長野県産、鳥取県産) は中国産の分布と重なり判別できなかった (図3)。また、中国産試料は 38 試料中 23 試料が中国産と判別された。Sr 安定同位体比を用いた判別法は、生鮮ネギだけでなくカットネギにも適用できる可能性があるものの、中国産試料の判別率からみると Sr 安定同位体比だけでは判別精度が不十分と考えられた。

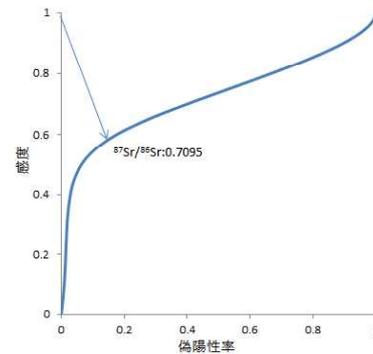


図2 $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ による判別法のROC曲線

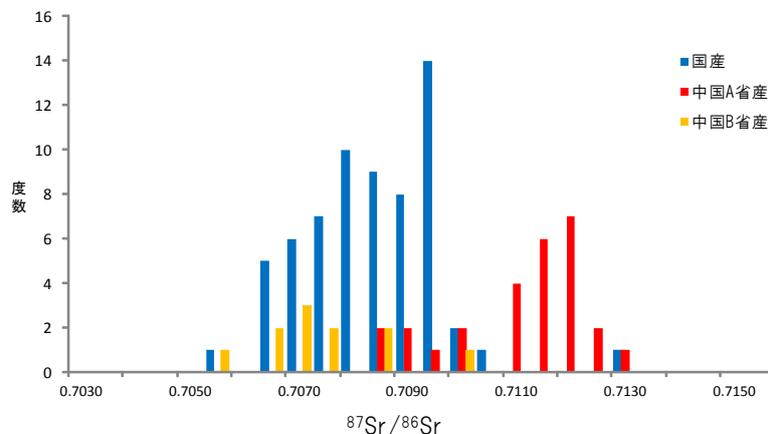


図3 収集試料中の $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ のヒストグラム

3. 2 元素分析

3. 2. 1 元素濃度の測定

国産試料と中国産試料の乾燥試料中濃度を表5に示した。20 元素の測定結果について t 検定を行ったところ、10 元素について国産と中国産間に有意差がみられた (p<0.05)。

表5 乾燥試料中の元素濃度

t検定	国産 (mg/kg)									
	Na ※	Mg ※	P ※	K	Ca ※	Mn ※	Fe	Co ※	Ni ※	Cu
平均値	34	11.0×10 ²	29.1×10 ²	17.2×10 ³	2.9×10 ³	11	29	3.5×10 ⁻²	1.0	3.0
標準偏差	35	2.3×10 ²	6.6×10 ²	3.9×10 ³	1.1×10 ³	11	13	4.4×10 ⁻²	1.5	1.6
最小値	8	6.1×10 ²	15.7×10 ²	10.0×10 ³	1.2×10 ³	3	5	0.8×10 ⁻²	0.1	0.9
第1四分位数	20	9.4×10 ²	24.6×10 ²	14.1×10 ³	2.1×10 ³	6	17	1.6×10 ⁻²	0.4	1.7
中央値	27	10.7×10 ²	28.0×10 ²	17.5×10 ³	2.8×10 ³	7	30	2.1×10 ⁻²	0.6	2.7
第3四分位数	38	12.5×10 ²	33.7×10 ²	19.6×10 ³	3.5×10 ³	10	37	3.3×10 ⁻²	0.9	3.9
最大値	312	18.9×10 ²	52.0×10 ²	26.8×10 ³	7.7×10 ³	75	59	32.2×10 ⁻²	9.6	7.3

t検定	国産 (mg/kg)									
	Zn	Rb	Sr ※	Mo ※	Cd ※	Cs	Ba	Tl	La	Ce
平均値	29	5.7	10.2	0.25	8.0×10 ⁻²	4.3×10 ⁻³	3.3	2.6×10 ⁻²	0.6×10 ⁻²	0.5×10 ⁻²
標準偏差	15	3.4	6.6	0.47	7.7×10 ⁻²	6.5×10 ⁻³	4.8	9.5×10 ⁻²	1.5×10 ⁻²	1.4×10 ⁻²
最小値	12	1.4	2.1	0.01	0.4×10 ⁻²	0.2×10 ⁻³	0.1	0.9×10 ⁻³	0.5×10 ⁻³	0.7×10 ⁻³
第1四分位数	20	3.6	6.7	0.05	2.7×10 ⁻²	1.5×10 ⁻³	1.1	0.6×10 ⁻²	0.1×10 ⁻²	0.1×10 ⁻²
中央値	24	5.0	8.8	0.13	5.2×10 ⁻²	3.0×10 ⁻³	2.0	0.9×10 ⁻²	0.2×10 ⁻²	0.2×10 ⁻²
第3四分位数	33	7.1	12.1	0.34	12.0×10 ⁻²	4.7×10 ⁻³	4.0	1.8×10 ⁻²	0.5×10 ⁻²	0.4×10 ⁻²
最大値	107	17.0	51.1	3.93	36.4×10 ⁻²	53.6×10 ⁻³	37.4	83.7×10 ⁻²	11.1×10 ⁻²	10.6×10 ⁻²

※はt検定により、国産と中国産間で有意水準5%で有意差が認められたことを示す。

t検定	中国産 (mg/kg)									
	Na	Mg	P	K	Ca	Mn	Fe	Co	Ni	Cu
平均値	122	12.2×10 ²	3.5×10 ³	17.6×10 ³	3.7×10 ³	22.4	39.1	10.3×10 ⁻²	1.7	2.7
標準偏差	95	1.5×10 ²	5.6×10 ³	4.6×10 ³	1.5×10 ³	18.3	17.5	8.9×10 ⁻²	1.2	1.2
最小値	35	8.0×10 ²	1.9×10 ³	9.0×10 ³	0.9×10 ³	6.6	13.8	1.5×10 ⁻²	0.3	1.0
第1四分位数	66	11.0×10 ²	3.4×10 ³	15.0×10 ³	2.8×10 ³	12.1	21.7	5.3×10 ⁻²	0.6	1.9
中央値	91	12.2×10 ²	3.6×10 ³	16.4×10 ³	3.6×10 ³	15.9	39.7	6.8×10 ⁻²	1.5	2.4
第3四分位数	125	13.2×10 ²	4.0×10 ³	20.4×10 ³	5.0×10 ³	21.8	51.1	12.6×10 ⁻²	2.5	2.9
最大値	483	14.6×10 ²	4.4×10 ³	29.5×10 ³	6.3×10 ³	79.6	87.8	42.4×10 ⁻²	4.7	6.4

t検定	中国産 (mg/kg)									
	Zn	Rb	Sr	Mo	Cd	Cs	Ba	Tl	La	Ce
平均値	30.6	4.8	27.3	6.0×10 ⁻²	1.3×10 ⁻¹	5.7×10 ⁻³	3.0	1.5×10 ⁻²	1.3×10 ⁻²	1.2×10 ⁻²
標準偏差	11.1	3.2	11.9	6.6×10 ⁻²	1.1×10 ⁻¹	5.3×10 ⁻³	2.0	1.5×10 ⁻²	1.9×10 ⁻²	1.5×10 ⁻²
最小値	16.4	0.5	14.5	0.4×10 ⁻²	9.7×10 ⁻³	0.6×10 ⁻³	0.3	0.6×10 ⁻⁵	0.1×10 ⁻²	0.1×10 ⁻²
第1四分位数	22.0	1.9	21.3	1.6×10 ⁻²	0.6×10 ⁻¹	1.9×10 ⁻³	1.7	0.5×10 ⁻²	0.5×10 ⁻²	0.5×10 ⁻²
中央値	29.6	4.5	24.3	3.8×10 ⁻²	0.9×10 ⁻¹	4.1×10 ⁻³	2.5	1.0×10 ⁻²	0.8×10 ⁻²	0.8×10 ⁻²
第3四分位数	36.2	7.0	31.1	8.6×10 ⁻²	1.9×10 ⁻¹	7.2×10 ⁻³	3.8	1.9×10 ⁻²	1.2×10 ⁻²	1.1×10 ⁻²
最大値	63.1	12.5	81.5	30.9×10 ⁻²	5.9×10 ⁻¹	23.5×10 ⁻³	9.5	5.6×10 ⁻²	10.9×10 ⁻²	9.1×10 ⁻²

3. 2. 2 元素データの解析

有意差のあった5 元素と Rb の濃度を説明変数として線形判別分析を行い判別式を構築した (式1)。

$$x = 4.712 \times \log_{10}[\text{Mg}] - 8.198 \times \log_{10}[\text{P}] + 1.397 \times \log_{10}[\text{Ca}] - 1.815 \times \log_{10}[\text{Co}] + 1.259 \times \log_{10}[\text{Rb}] - 4.755 \times \log_{10}[\text{Sr}] + 11.703 \quad \dots \text{(式1)}$$

ここで、[Mg]、[P]、[Ca]、[Co]、[Rb]、[Sr]は、それぞれの元素の乾燥試料中濃度 (mg/kg) を示す。

国産ネギ 64 試料と中国産ネギ 38 試料の元素濃度について、この判別式により判別得点を求めた。判別得点のヒストグラムを図 4 に示した。国産試料の誤判別が最小となる値を基準値として、この判別モデルにおいて判別得点 x が -1 以上の場合は国産、-1 未満の場合は中国産と判別したところ、中国産ネギ 38 試料中 33 試料を正しく判別する結果が得られた。

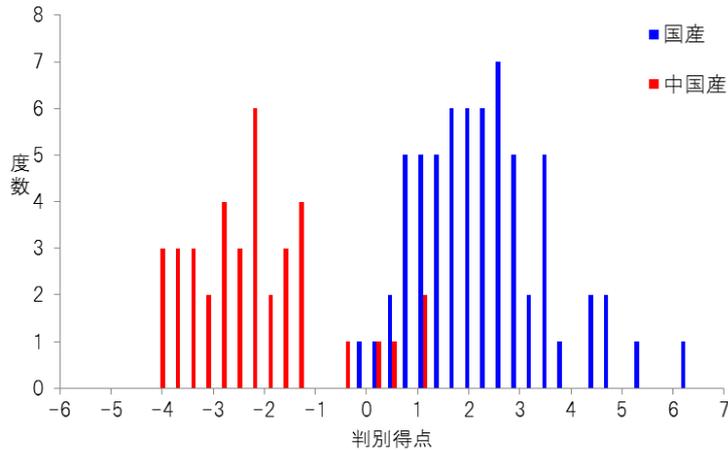


図 4 元素分析による判別得点のヒストグラム

3. 3 Sr安定同位体比と元素分析の組み合わせによる解析

Sr 安定同位体比と元素分析結果をもとに線形判別分析により求めた判別得点 x を 2 変数として、線形判別分析を行い判別式を構築した (図 5)。

$$y = 0.905 \times x \text{ (式 1)} - 265.464 \times {}^{87}\text{Sr}/{}^{86}\text{Sr} + 188.194 \quad \dots \text{ (式 2)}$$

このとき国産ネギ 64 試料全てを正しく判別し、中国産ネギ 38 試料中 35 試料を正しく判別した。Sr 安定同位体比分析において判別が困難であった中国産ネギの一部試料においても判別の可能性があると考えられた。

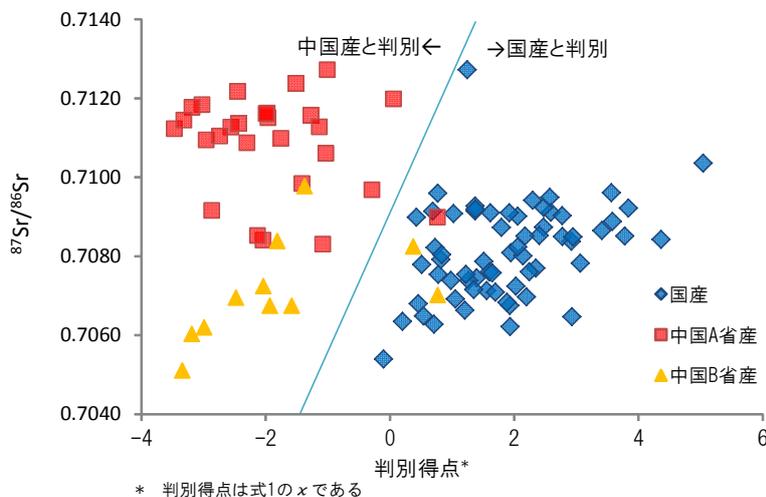


図 5 ${}^{87}\text{Sr}/{}^{86}\text{Sr}$ と元素分析法による判別得点の散布図

4. まとめ

本調査研究では、生鮮ネギの Sr 安定同位体比による原産地判別法を検討した。その結果、収集試料 102 試料中 83 試料の原産地を正しく判別した。また、カットネギと原料ネギの Sr 安定同位体比に大きな差はみられなかったことから、製造工程による影響は小さく、生鮮ネギと同様に判別できる可能性が考えられた。Sr 安定同位体比と元素分析の組み合わせによる原産地判別法を検討した。その結果、収集試料 102 試料中 99 試料の原産地を正しく判別したことから、Sr 安定同位体比分析に元素分析を組み合わせることで判別精度が向上する可能性があると考えられた。

5. 謝 辞

本研究を行うにあたり、試料提供いただいたユーフーズ株式会社に深く感謝いたします。

6. 文 献

- 1) 財務省貿易統計
- 2) 農林水産省作物統計
- 3) 有山 薫, 堀田 博, 安井 明美: ネギの産地判別のための無機元素測定法の確立と予備的検討. 分析化学 52, 969-978 (2003)
- 4) Ariyama, K.; Horita, H.; Yasui, A. : Chemometric Techniques on Inorganic Elements Composition for the Determination of the Geographic Origin of Welsh Onions, Anal. Sci. 20, 871-877 (2004).
- 5) Ariyama, K.; Horita, H.; Yasui, A. : Application of Inorganic Element Ratios to Chemometrics for Determination of the Geographic Origin of Welsh Onions, J. Agric. Food Chem. 52, 5803-5809 (2004).
- 6) 伊澤 淳修, 青山 恵介, 申 基澈, 中野 孝教: ストロンチウム安定同位体比によるタケノコ等野菜の水煮加工品の原料原産地判別法の検討. 農林水産消費安全技術センター食品関係等調査研究報告, 38, 6-15 (2014)