

栗加工品の原料原産地判別検査法の検討

後藤 祐之介¹, 井伊 悠介², 申 基澈³, 陀安 一郎³

Yunosuke Gotou, Yusuke Ii, Ki-Cheol Shin, Ichiro Tayasu

要 約

原料栗が国産（日本産）及び外国産（韓国産及び中国産）の栗加工品について、ストロンチウム（Sr）安定同位体比を利用した原料原産地判別法を検討した。生鮮栗（国産 68 点、外国産 21 点）、栗加工品（原料栗が国産のもの 21 点、原料栗が外国産のもの 27 点）を収集し Sr 安定同位体比を測定した。甘露煮の加工工程で栗の Sr 安定同位体比は加工に用いた糖液の Sr 安定同位体比に影響される傾向があった。また、生鮮栗試料と栗加工品試料間に有意な差がみられたため、栗加工品試料を用いて Sr 安定同位体比による判別モデル及び Sr 安定同位体比と Sr 濃度による判別モデルを検討したが、いずれの判別モデルも十分な判別精度は得られなかった。

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、一般用加工食品にあつては、「名称」、「原材料名」等の表示が義務付けられている。さらに、平成 29 年 9 月 1 日からは、輸入品以外の加工食品においては、重量割合が最も高い原材料の原産地について、「国産品にあつては国産である旨を、輸入品にあつては、原産国名を表示する。」ことが義務付けられた（経過措置期間：平成 34 年 3 月 31 日まで）。

国内で製造されている栗の加工品としては主に甘露煮等の缶瓶詰があり、2015 年の生産量は 8,443 トン¹⁾である。原料の生鮮栗については、国内の生産量が 11,800 トン²⁾に対して、加工用途で輸入された生鮮栗は 3,649 トン³⁾であり、輸入国の内訳は、韓国産 73%、中国産 26%である。また、栗加工品としての輸入量は 2,066 トン³⁾あり、そのうち中国産は 75%を占めている。原料の生鮮栗については国産と外国産で 2 倍程度の価格差⁴⁾があることから栗加工品の原料栗の原産地（原料原産地）の偽装が懸念され、原料原産地を客観的に検証する判別技術が望まれている。

食品における原産地に関する科学的検証法は、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⁵⁾⁻⁷⁾。これらの方法は、土壌や水質等の生育環境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原産地判別法であるが、農産物加工品及び水産物加工品の原料原産地判別にも利用できることが報告されている⁸⁾⁻¹⁰⁾。そこで、栗加工品のうち国内生産量の多い甘露煮等を対象として、Sr 安定同位体比分析による栗加工品の原料原産地判別法について加工工程における Sr 安定同位体比の変動をふまえて検討を行った。

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 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（現）本部

³ 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

2. 実験方法

2.1 試料

試料は、平成 29 年 4 月から平成 29 年 12 月にかけて生鮮栗（国産 68 点、韓国産 10 点、中国産 11 点）、甘露煮（原料栗が国産のもの 15 点、韓国産のもの 11 点、中国産のもの 7 点）、渋皮煮（原料栗が国産のもの 6 点、韓国産のもの 4 点、中国産のもの 5 点）を入手した。栗加工品試料は製造業者、流通事業者などから加工後の製品を入手し、生鮮栗試料は出荷量の割合を参考に農業協同組合などから入手するとともに、一部については栗加工品の製造業者から原料の生鮮栗を試料として入手した。

2.2 試薬

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）、50 %ふっ化水素酸（原子吸光分析用、関東化学）を用いた。硝酸の希釈には超純水（比抵抗値 $18\text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$ 以上）を用いた。内標準法によるSrの濃度測定のために、標準物質としてSrとInの単元素標準物質（ともにPlasmaCal、SCP SCIENCE）を用いた。Srを精製するために、Srレジン（Eichrom Technologies）を用いた。測定した試料のSr安定同位体比を補正するための標準物質として認証標準物質Strontium Carbonate SRM987（National Institute of Standards and Technology）を用いた。

2.3 装置

Sr濃度の測定には、誘導結合プラズマ質量分析装置（ICP-MS）（820MS、Varian（現 Agilent Technologies））を用いた。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装置（MC-ICP-MS）（Neptune Plus、Thermo Fisher Scientific）を用いた。

2.4 試料調製

試料 1 点につき、果肉部分の 1 個をランダムに抜き取り用いた。生鮮試料については外皮（鬼皮）及び内皮（渋皮）を剥皮し、栗加工品試料については渋皮煮は渋皮を削り取り甘露煮は表面に付いた糖液を水道水で洗い流した。超純水で表面を洗浄した後にポリエチレン製袋に入れハンマーで叩いて粉碎試料とした。

2.5 酸分解

粉碎試料約 5 g 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、 $120\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 $180\sim 230\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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。その後放冷し、48 %フッ化水素酸を 2 mL 加え、 $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ 程度で 40 分加温した。次に時計皿を外し、約 $230\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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、50 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 $5\text{ }\mu\text{g/L}$ になるように加え、1 %硝酸で定容後、Sr濃度測定用試料溶液とした。試料は全て 2 点併行で分析した。

2.6 Sr の精製

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 レジンをカラム管に充填し、8 M 硝酸でコンディショニングを行った。次に Sr 濃度測定用試料溶液 (Sr が 400 ng 含まれる量) を 200 °C 程度で蒸発乾固し、残留物を 8 M 硝酸 6 mL に溶解し、Sr レジンカラムに負荷した。8 M 硝酸 3 mL を添加して Sr レジンカラムを洗浄した後、0.05 M 硝酸 2 mL で Sr を溶出させた。この溶出液を 65 °C 程度で蒸発乾固させ、残留物を 3 %硝酸 2 mL に溶解し、これを Sr 安定同位体比測定用試料溶液とした。

2.7 測定

ICP-MS を用いて内標準法 (内標準 : In) により Sr 濃度を表 1 の測定条件で測定した。また、MC-ICP-MS を用いて Sr 安定同位体比を表 2 の測定条件で測定した。

表 1 ICP-MS の測定条件

RFパワー	1.3 kW
プラズマガスフロー	15.5 L/min
補助ガスフロー	1.5 L/min
ネブライザーガスフロー	0.95 L/min
ポンプ速度	0.08 rps

表 2 MC-ICP-MS の測定条件

RFパワー	1.2 kw
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 μ L/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	40

2.8 加工工程による Sr 安定同位体比への影響の確認

甘露煮等の栗加工品は、国内の製造業者が外国産の生鮮栗を用いて製造した国内加工品や、国産の生鮮栗を輸出し加工工程の一部を国外で行った一部国外加工品など、原料の原産国と製品の加工国が異なる場合がある。このような製品における加工工程での Sr 安定同位体比の変化を把握するために、生鮮栗 2 産地 (長野県産、韓国産) と Sr 安定同位体比が異なる 2 種類の水 (I : $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr} = 0.7174$ 、II : $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr} = 0.7039$) を用いて次のとおり甘露煮模擬試料を作製した。生鮮栗 5 個の外皮及び内皮を剥皮し、水 200 mL とともにポリエチレン製袋に入れた。1 時間後、表 3 の加熱処理 1 の条件で水煮を行い、その後 50 %砂糖溶液 100 mL に移し替えて加熱処理 2 の条件で糖液煮を行って模擬試料を作製した。

表 3 甘露煮模擬試料の作製条件

	温度 (°C)	時間 (分)
加熱処理1	20~60	10
	60	20
	60~100	20
加熱処理2	~100	10
	100	20

2.9 判別モデルの構築

2.9.1 Sr 安定同位体比による判別

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、国産試料を国産と正しく判別する確率 (特異度) 及び外国産試料を外

国産と正しく判別する確率（感度）を算出し、偽陽性率（100－特異度）を横軸、感度を縦軸にプロットした Receiver Operating Characteristic（ROC）曲線から基準値を設定した。

2.9.2 Sr 安定同位体比と Sr 濃度による判別

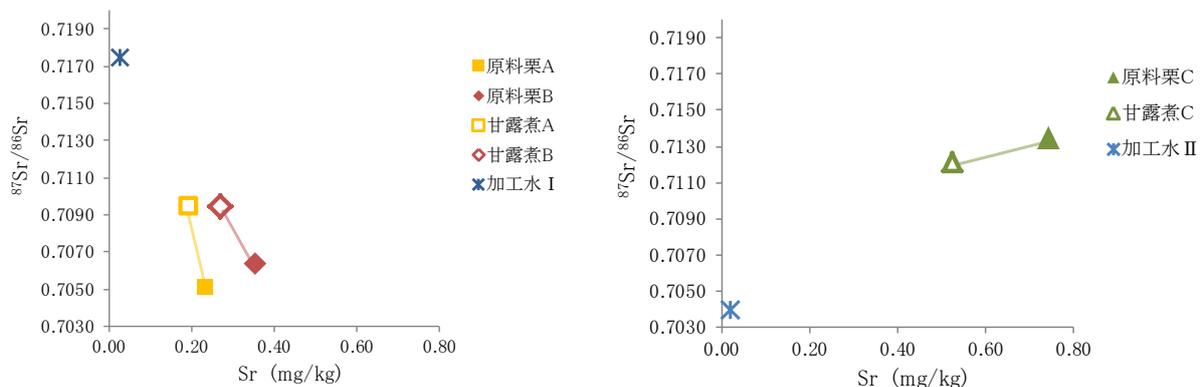
2.7 で得られたデータのうち、栗加工品試料を判別モデルの構築に用いた。各試料 2 点併行で分析した結果から、ランダムに 1 点選択した Sr 安定同位体比と Sr 濃度を説明変数として、線形判別分析により判別モデルを構築した。線形判別分析は R 3.4.1 の MASS パッケージを使用した。解析は中村ら⁷⁾の方法に従った。構築した判別モデルの未知試料に対する的中率は、判別モデル構築用試料を用いた Leave-one-out cross validation（LOOCV）により確認した。

3. 結果及び考察

3.1 加工工程による Sr 安定同位体比への影響の確認

生鮮栗を Sr 安定同位体比 ($^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$) の異なる水で加工した甘露煮試料とその原料栗の $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ と Sr 濃度を測定した。国産生鮮栗を $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ の高い水 I で加工した甘露煮試料 A、B とその原料栗 A、B の $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ と Sr 濃度を図 1 (a) に、韓国産生鮮栗を $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ の低い水 II で加工した甘露煮試料 C とその原料栗 C の $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ と Sr 濃度を図 1 (b) に示した。甘露煮試料の $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ は、全ての模擬試料において原料栗と加工水の間の値を示した。Sr 濃度については、全ての模擬試料において原料栗の値より減少する傾向がみられた。

甘露煮試料の $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ は、原料栗の $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ から加工に用いた水の $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ に近づく傾向がみられ、これは加工工程（水煮・糖液煮）による影響と考えられた。この結果から栗の産地と加工地が異なる場合、甘露煮の Sr 安定同位体比は加工地の水の影響を受けて生鮮栗の値から変動する可能性があると考えられた。



(a) 水 I ($^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr} = 0.7174$) を用いた試料 ($n = 5$) (b) 水 II ($^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr} = 0.7039$) を用いた試料 ($n = 5$)

図 1 甘露煮試料とその原料栗の $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ と Sr 濃度

3.2 Sr 安定同位体比

今回収集した試料の $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ を品目別に表 4 に示した。生鮮栗、栗加工品ともに原料栗の産地が国産の試料より外国産の試料の方が有意に高い傾向がみられた。また、国産の試料、外国産の試料ともに生鮮栗試料と栗加工品試料間に t 検定で有意な差 ($p < 0.05$) がみられたことから、判別モデルの検討に生鮮栗試料は用いないこととした。

表 4 生鮮栗試料と栗加工品試料の $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$

原料栗の産地	試料形態	試料数(n)	平均値	最大値	最小値	標準偏差
国産	生鮮栗	68	0.7077	0.7117	0.7050	0.0016
	栗加工品	21	0.7089	0.7134	0.7061	0.0019
外国産	生鮮栗	21	0.7116	0.7205	0.7064	0.0032
	栗加工品	27	0.7139	0.7207	0.7103	0.0024

3.3 Sr 安定同位体比による判別の検討

収集した栗加工品試料について原料栗の産地別の $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ を図 2 に示した。

$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ の ROC 曲線において偽陽性率が最小で感度が最大となる値を産地判別の基準とした。判別基準値は $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ で 0.7110 となり (図 3)、収集試料の $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ が 0.7110 以上なら外国産、0.7110 未満なら国産と判定した。判別モデル構築用試料の的中率は、国産試料 90.5% (19/21)、外国産試料 96.3% (26/27) となったが、国産試料と外国産試料の $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ の分布に一部重なりがあり十分な判別結果は得られなかった。

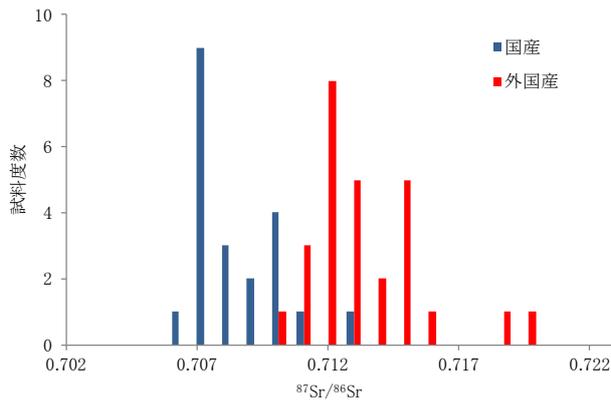


図 2 栗加工品試料の $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ のヒストグラム

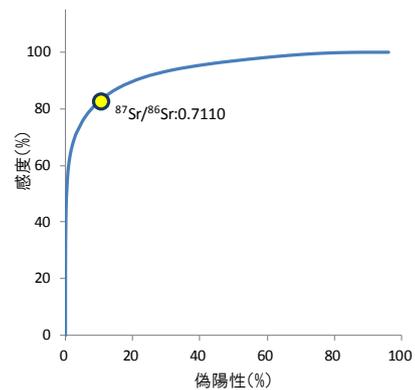


図 3 $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ 判別の ROC 曲線

3.4 Sr 安定同位体比と Sr 濃度による判別の検討

栗加工品試料の Sr 濃度を表 5 に $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ と Sr 濃度の関係を図 4 に示した。原料栗が国産の試料と外国産の試料の Sr 濃度に有意な差はなく、国産試料の分布範囲に外国産試料がほぼ重なっている。

表 5 栗加工品試料の Sr 濃度 (mg/kg)

原料栗の産地	試料数(n)	平均値	標準偏差
国産	21	0.68	0.55
外国産	27	0.84	0.50

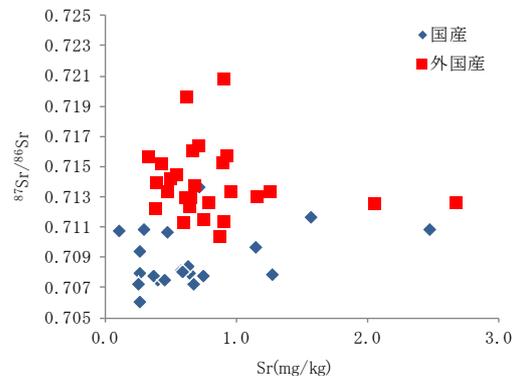


図 4 栗加工品試料の $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ と Sr 濃度の散布図

栗加工品試料について、 $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ と Sr 濃度を変数として、線型判別分析により判別モデルを構築した。LOOCV により得られた判別モデルの判別得点のヒストグラムを図 5 に示した。判別得点が正の場合は国産、負の場合は外国産と判別した。

判別モデル構築用試料の的中率は、国産 85.7 % (18/21)、外国産 85.2 % (23/27) となり、十分な判別精度は得られなかった。このため、原産地判別の検査法として用いるのは困難と考えられた。

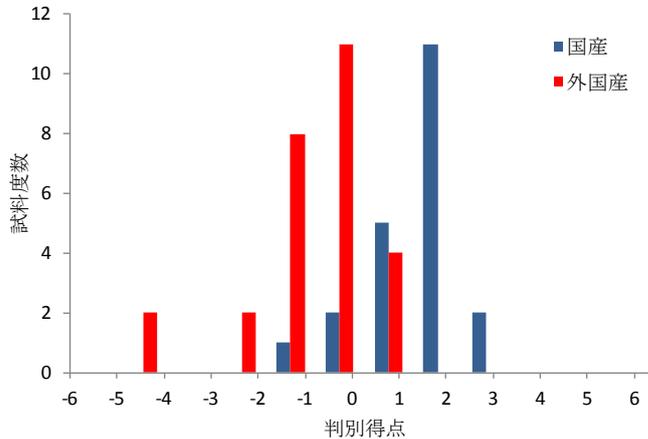


図 5 $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ と Sr 濃度による判別得点のヒストグラム

4. まとめ

本研究では、 $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ を利用した栗加工品の原料原産地判別法を検討した。その結果、判別モデル構築用試料の的中率は、 $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ による判別モデルでは国産試料 90.5 %、外国産試料 96.3 %、 $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ と Sr 濃度による判別モデルでは国産 85.7 %、外国産 85.2 % となり、いずれの判別モデルも十分な判別精度は得られなかった。

また、甘露煮の加工工程で栗の $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ は変動し加工に用いた水の値に近づく傾向が確認された。今後、甘露煮など加工品の原料原産地判別の精度を向上させるため、水煮等の加工影響を軽減させる前処理法や新たな判別技術の開発が望まれる。

文 献

- 1) 2015年缶詰協会資料
- 2) 農林水産省作物統計
- 3) 財務省貿易統計
- 4) 東京都中央卸売市場年報 (平成28年)
- 5) Ariyama, K.; Aoyama, Y.; Mochizuki, A.; Homura, Y.; Kadokura, M.; Yasui, A.: Determination of the geographic origin of onions between three main production areas in Japan and other countries by mineral composition, *J. Agric. Food Chem.*, **55**(2), 347-354(2007)
- 6) 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)
- 7) 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)
- 8) 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)
- 9) 諸橋保, 青山恵介, 浪越充司, 木村康晴, 服部賢志: 元素分析による湯通し塩蔵わかめの原料原産地判別, 日本水産学会誌, **77** (2), 243-245 (2011)
- 10) Hiraoka, H.; Morita, S.; Gotou, Y.; Hattori, S.; Ishikawa, T.; Okano K.: Confirming the authenticity of the geographical origin of Naruto dried wakame *Undaria pinnatifida* using stable nitrogen isotope ratios, *Fisheries Science*, **80**(3), 635-642(2014)