

サトイモの原産地判別法の開発

高嶋 康晴¹、小岩 智宏²、豊田 正俊²、山川 義正²、寺田 昌市²、渡邊 彩乃²、中村 哲²
Yasuharu Takashima, Tomohiro Koiwa, Masatoshi Toyoda, Yoshimasa Yamakawa, Shoichi Terada,
Ayano Watanabe, Satoru Nakamura

要 約

平成 22 年に開発した元素分析によるサトイモ原産地判別法の判別精度の向上のために、元素分析に加え、軽元素（炭素及び酸素）安定同位体比分析及びストロンチウム安定同位体比（⁸⁷Sr/⁸⁶Sr、以下「Sr 安定同位体比」という。）分析を対象に、各分析法単独又は組合せによる産地判別の精度向上の可能性について検討を実施した。各分析法単独での判別精度は低く、産地判別は困難であるが、元素分析と Sr 安定同位体比分析等、複数の分析法を組み合わせることで、判別精度を向上させることが可能となった。

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義務表示事項、表示の方法が規定されており、生鮮食品においては「原産地」の表示が義務付けられている。

平成 29 年のサトイモの国内出荷量は約 97,000 トン¹⁾であるのに対し、生鮮サトイモの輸入量は約 4,000 トン²⁾であり、その全てが中国産である。平成 29 年の東京都中央卸売市場では、中国産サトイモはほぼ一定の価格で取引されており、国産サトイモの 6~7 割程度（夏期以外）から 5 割以下程度（夏期）の価格で取引されている³⁾。この価格差のため、産地偽装が懸念され、サトイモの原産地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、平成 20~21 年度には、農林水産省の委託プロジェクト研究「食品・農産物の表示の信頼性確保と機能性解析のための基盤技術の開発」の中で、独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構野菜茶業研究所及び食品総合研究所（現 国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構野菜花き研究部門及び食品研究部門）と共同で、元素分析によりサトイモの原産地表示の真正性を確認する方法を開発し⁴⁾、平成 22 年に独立行政法人農林水産消費安全技術センター（以下「FAMIC」という。）において判別検査法として整理し、検査に活用してきた。しかしながら、産地判別法については、主要産地の変遷、環境要因の変動、新品種の導入等により、判別検査法作成から長期間が経過すると判別検査法に使用した判別モデル試料と、現在、流通している商品に乖離がみられることがあるため、サトイモ原産地判別法においても、由来の確かな試料を再収集し、判別モデルの信頼性を確認することが望まれていた。近年、産地判別には元素分析⁵⁾だけでなく、軽元素安定同位体比分析⁷⁾及び重元素安定同位体比分析⁸⁾での判別法開発への適用がみられ、FAMIC においても元素分析、軽元素安定同位体比分析及び重元素安定同位体比分析について単独又は複数の分析法について検討されている^{9)~11)}。

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本部

本研究では、元素分析のほか、軽元素（炭素及び酸素）安定同位体比分析及び Sr 安定同位体比分析を用い、単独又は複数の分析の組合せによる産地判別の可能性について検討した。

2. 実験方法

2.1 試料

サトイモ (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) のうち、子芋用品種（子芋及び孫芋を食用とする品種）を対象とし、国産試料は、各県の出荷量¹⁾の割合を参考に農業協同組合など生産者団体を通じて 79 点^(注)、外国産試料は、輸入量²⁾を参考に輸入業者などから中国産 55 点（山東省産 54 点、浙江省産 1 点）を収集し、国産試料 74 点及び中国産試料 30 点を判別モデルの構築に用いた（表 1）。

表 1 収集試料の内訳

国産試料			外国産（中国産）試料		
県名	試料数	判別モデル構築に 用いた試料数	省名	試料数	判別モデル構築に 用いた試料数
愛媛	13	13	山東	54	29
宮崎	10	10	浙江	1	1
千葉	8	8			
埼玉	6	6			
鹿児島	4	4			
神奈川	4	4			
福岡	4	4			
熊本	3	3			
新潟	3	3			
愛知	3	3			
茨城	5	3			
福井	3	3			
岐阜	3	3			
栃木	3	2			
静岡	3	2			
群馬	3	2			
兵庫	1	1			
計	79	74	計	55	30

2.2 試薬

実験に使用した水は、超純水製造装置（Milli-Q Element A10又はIntegral3、ともにメルクミリポア）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。各元素の検量線用混合標準溶液には単元素標準溶液（Na、Mg、P、Ca、Mn、Fe、Ni、Cu、Zn、Rb、Sr、Cd及びBa、ICP分析用）を適宜希釈して調製した。また、Inを内標準溶液として、検量線用混合標準溶液及び試料溶液に添加した。Sr安定同位体比測定において、Srを精製・濃縮するためにSrレジン（粒径50-100 μm、Eichrom Technologies）を用いた。

Sr安定同位体比測定用の標準溶液は、NIST（アメリカ国立標準技術研究所）の認証標準物質 Strontium Carbonate SRM987を溶解し、適宜希釈して調製した。

(注) 国産試料の収集は、FAMIC 上田恵理子、龍口久子、小玉光男、田口真希、伊澤淳修、坪根政文、荒尾祐子が担当した。

2.3 装置

元素濃度の測定には、誘導結合プラズマ質量分析装置（ICP-MS）、誘導結合プラズマ発光分光分析装置（ICP-OES）及び二重収束型高分解能誘導結合プラズマ質量分析装置（HR-ICP-MS）を用いた。軽元素安定同位体比測定用の試料調製には、真空凍結乾燥器を用いた。炭素安定同位体比の測定には、元素分析/同位体比質量分析計（EA/IRMS）、酸素安定同位体比の測定には熱分解型元素分析計/同位体比質量分析計（TCEA/IRMS）を用いた。Sr安定同位体比の測定には、HR-ICP-MSを用いた（表2）。

表2 使用装置一覧

装置名	機種名	メーカー名
ICP-MS	820MS	Varian (現Agilent Technologies)
	7500cx	Agilent Technologies
ICP-OES	725-ES	Varian (現Agilent Technologies)
	Agilent5100	Agilent Technologies
	iCAP 6300	Thermo Fisher Scientific
HR-ICP-MS	ELEMENT2	Thermo Fisher Scientific
	ELEMENT XR	
真空凍結乾燥器	DRZ350WB	ADVANTEC
	FDU-1200	EYELA
EA/IRMS	Iso Prime EA/PyrOH	Elementar
TCEA/IRMS	(TCEA) TCEA	Thermo Fisher Scientific
	(IRMS) Delta V advantage	

2.4 分析

2.4.1 試料調製

セラミック製包丁で外皮をむき、試料を超純水でよく洗浄した上で、概ね5 mm以下の厚さに薄切りし、二重にした樹脂製袋に入れた後、粒径5 mm以上の粒が残らない程度までハンマーで試料を粉砕した（以下「粉砕試料」という。）。粉砕試料を一部採取し、凍結乾燥したものを軽元素安定同位体比測定用試料とした。

2.4.2 水分測定

粉砕試料約3 gをアルミ箔容器に採取し、恒温乾燥器を用いて70 °Cで24時間乾燥し、前後の重量差により水分含有量を求めた。

2.4.3 酸分解

粉砕試料約2 gを樹脂製ヒータブルビーカーに採取し、61 %硝酸を10 mL加え、樹脂製時計皿でふたをし、ホットプレート上で120 °Cに加熱した。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200 °Cまで加温し、分解液が透明、かつ無色又は薄い黄色になるまで分解した。その後、約230 °Cで加熱して分解液を蒸発・乾固した。ビーカーに1 %硝酸を10 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10 µg/Lとなるように加え、1 %硝酸で定容後、元素濃度測定用試料溶液とした。各試料について2点併行で実施した。

2.4.4 Srの精製

Srの精製は石井ら¹¹⁾の方法に従った。すなわち、Srレジンを0.05 M硝酸に懸濁させ、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。元素濃度測定用試料溶液を濃度調整した上でコンディショニング後のSrレジんに負荷した。8 M硝酸3 mLを加えてSrレジンを洗浄後、0.05 M硝酸を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 元素濃度、Sr安定同位体比の測定

元素濃度は、ICP-OESを用いて、検量線法によりNa、Mg、P、Ca、Mn、Zn、Fe、Cu、Sr及びBaを測定し、ICP-MS又はHR-ICP-MSを用いて、内標準法（内標準：¹¹⁵In）によりNi、Rb及びCdを測定した。

Sr安定同位体比は、HR-ICP-MSを用いて、exponential lawによる内部補正法⁸⁾に従い測定した。

2.4.6 炭素及び酸素安定同位体比の測定

炭素安定同位体比は、粉碎試料をスズ製カプセルに採取し包み込んだ後、EA/IRMSにより測定した。酸素安定同位体比は、粉碎試料を銀製カプセルに採取し包み込んだ後、TCEA/IRMSにより測定した。試料はそれぞれ2点併行で分析した。

2.5 判別モデルの構築

判別モデルの構築は、中村ら⁹⁾の方法に準じた。元素分析について、測定した粉碎試料中の元素濃度から、Mg に対する濃度比の常用対数を説明変数として、線形判別分析（LDA）、二次判別分析（QDA）、サポートベクターマシン（SVM）及び人工ニューラルネットワーク（ANN）により判別モデルを構築した。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。また、説明変数に炭素安定同位体比及び Sr 安定同位体比を加えた場合についても、同様に判別モデルの構築及び的中率の確認を行った。

3. 結果及び考察

3.1 元素濃度の測定結果と判別の検討

判別モデルに使用した国産試料（N=74）と外国産試料（N=30）の粉碎試料中元素濃度の各種統計量を表3に示す。

表 3.1 粉碎試料中元素濃度（国産試料）の各種統計量

	国産 (N = 74) (mg / kg)											ICP-MS 又はHR-ICP-MS		
	ICP-OES										Ni	Rb	Cd	
	Na	Mg	P	Fe	Ca	Mn	Cu	Zn	Sr	Ba				
平均値	10.3	198	547	4.2	131	2.9	1.3	3.4	0.63	0.41	0.21	3.3	4.2×10 ⁻²	
標準偏差	19.9	53	184	1.8	100	2.8	0.5	2.3	0.56	0.59	0.24	2.2	4.3×10 ⁻²	
最大値	116	345	1067	10.7	620	14.9	2.3	14.5	3.25	2.78	1.27	10.7	22.5×10 ⁻²	
第3四分位数	7.1	237	667	5.2	136	3.1	1.6	3.4	0.88	0.46	0.24	4.6	6.0×10 ⁻²	
中央値	4.1	203	520	4.0	103	1.8	1.3	2.9	0.44	0.17	0.14	3.0	2.9×10 ⁻²	
第1四分位数	3.0*	158	435	3.2	76	1.3	1.0	2.4	0.26	0.07	0.09	1.6	1.2×10 ⁻²	
最小値	3.0*	28	63	0.5*	20	0.4	0.5*	0.5	0.10	0.04*	0.03*	0.3	0.3×10 ^{-2*}	

* 検出下限以下の場合は検出下限値を最小値として取り扱った

表 3.2 粉砕試料中元素濃度（外国産試料）の各種統計量

	外国産 (N = 30) (mg / kg)										ICP-MS 又はHR-ICP-MS		
	ICP-OES										Ni	Rb	Cd
	Na	Mg	P	Fe	Ca	Mn	Zn	Cu	Sr	Ba			
平均値	7.8	185	602	3.4	114	3.8	3.0	1.4	0.66	0.37	0.67	3.5	4.2×10 ⁻²
標準偏差	3.8	38	142	1.0	37	2.7	0.8	0.4	0.35	0.59	0.42	6.2	2.7×10 ⁻²
最大値	20.3	255	926	5.8	198	10.5	4.8	2.3	1.47	3.25	1.60	35.5	9.9×10 ⁻²
第3四分位数	9.3	205	708	4.0	144	5.6	3.4	1.6	0.94	0.32	0.88	3.4	5.9×10 ⁻²
中央値	7.3	185	605	3.5	105	2.3	3.0	1.4	0.54	0.20	0.59	2.3	4.0×10 ⁻²
第1四分位数	5.5	164	483	2.9	88	1.7	2.6	1.1	0.39	0.15	0.34	1.4	2.3×10 ⁻²
最小値	3.0	105	371	1.5	62	1.2	1.7	0.5*	0.23	0.04*	0.13	0.3	0.3×10 ^{-2*}

* 検出下限以下の場合は検出下限値を最小値として取り扱った

国産-外国産の判別モデルとして説明変数に 8 元素(Na、Mg、P、Mn、Ni、Cu、Rb、及び Ba)を用いる判別モデルが得られた。このモデルを元に LOOCV により得られた判別得点のヒストグラムを図 1 に示す。判別得点が正の場合を国産と判別するとき、モデル構築用試料のうち国産試料の 95.9% (71/74)、外国産試料の 80.0% (24/30) を正しく判別した。国産試料の的中率が低く、国産表示の市販品を検査するには、元素分析単独では判別精度が不十分であることが明らかとなった。

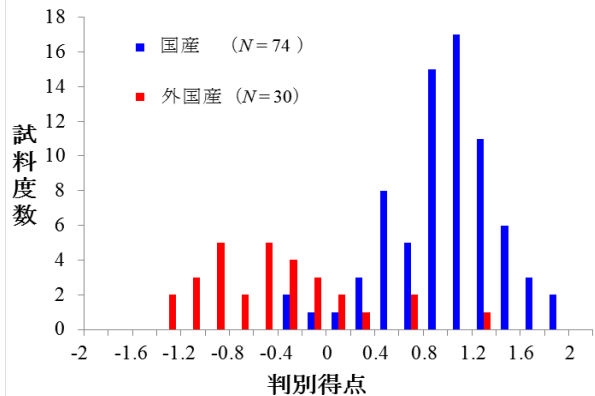


図 1 元素濃度の判別モデルによる国産と外国産のヒストグラム

3.2 炭素及び酸素安定同位体比の測定結果と判別の検討

炭素及び酸素安定同位体比の各種統計量を表 4 に示す。酸素安定同位体比については、事前検討として収集試料からランダムに選択した試料（国産 (N=29) と外国産 (N=34)）を用いて比較したところ、有意差があるとはいえなかった ($p > 0.05$) (図 2) ため、それ以上の検討を実施しなかった。

炭素安定同位体比については事前検討で有意な差が見られたため、元素濃度による判別モデルに使用した試料（国産 (N=74)、外国産 (N=30)）を用いて比較したところ有意差がみられた ($p < 0.01$) (図 2)。ヒストグラムを図 3 に示す。国産、外国産の分布が重なり、炭素安定同位体比単独での判別は困難であることが明らかとなった。

表 4 国産及び外国産の炭素及び酸素安定同位体比の各種統計量

	炭素安定同位体比		酸素安定同位体比	
	国産 (N = 74)	外国産 (N = 30)	国産 (N = 29)	外国産 (N = 34)
平均 (‰)	-26.99	-26.26	23.5	23.4
標準偏差 (‰)	0.78	1.02	1.4	1.6
最大値 (‰)	-24.99	-23.52	26.6	27.6
第 3 四分位 (‰)	-26.40	-25.65	24.4	24.4
中央値 (‰)	-26.94	-26.19	23.2	23.4
第 1 四分位 (‰)	-27.42	-27.12	22.5	22.4
最小値 (‰)	-29.14	-27.82	20.2	20.3
<i>p</i> 値	0.0012		0.9301	

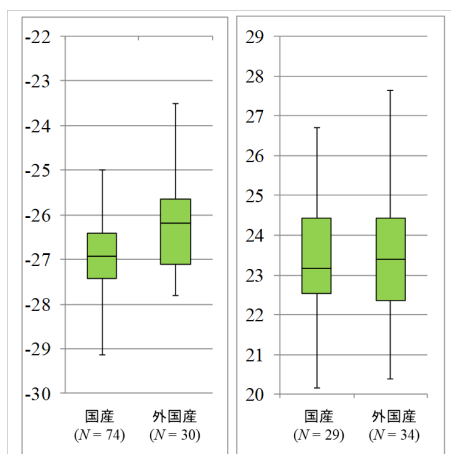


図 2 国産と外国産の炭素(左)及び酸素(右)安定同位体比の箱ひげ図

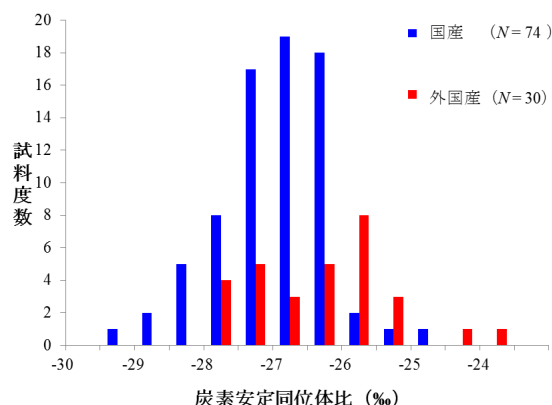


図 3 炭素安定同位体比の判別モデルによる国産と外国産のヒストグラム

3.3 Sr 安定同位体比の測定結果と判別の検討

元素濃度による判別モデルに使用した国産試料 (N=74) と外国産試料 (N=30) の Sr 安定同位体比の各種統計量を表 5 に示す。国産と外国産間で有意な差が見られた ($p < 0.001$)。国産、外国産の Sr 安定同位体比のヒストグラムを示す (図 4)。Sr 安定同位体比が 0.7110 以下を国産と判別するとき、モデル構築用試料のうち国産試料の 98.6% (73/74)、外国産試料の 70.0% (21/30) を正しく判別した。ただし、HR-ICP-MS の測定誤差等を考慮すると、Sr 安定同位体比分析単独での判別は困難であると考えられた。

表 5 国産と外国産の Sr 安定同位体比の各種統計量

	国産 (N = 74)	外国産 (N = 30)
平均値	0.7082	0.7124
標準偏差	0.0014	0.0025
最大値	0.7115	0.7214
第3四分位数	0.7091	0.7135
中央値	0.7084	0.7120
第1四分位数	0.7074	0.7108
最小値	0.7041	0.7072
p 値	< 0.001	

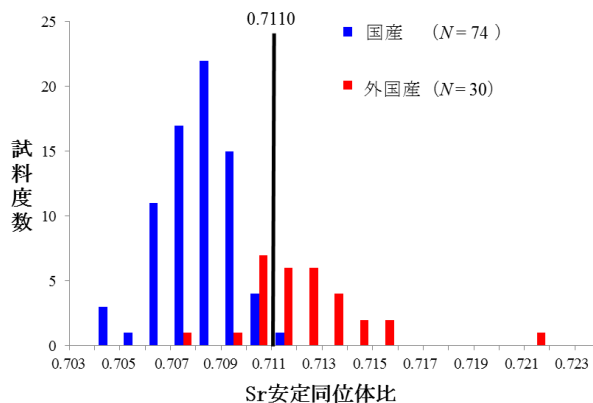


図 4 Sr 安定同位体比の判別モデルによる国産と外国産のヒストグラム

3.4 元素濃度と Sr 安定同位体比の組合せ

元素分析と Sr 安定同位体比分析の組合せについて検討したところ、9 元素 (Na、Mg、P、Ca、Fe、Ni、Rb、Cd 及び Ba) 及び Sr 安定同位体比の組合せによる国産と外国産の判別モデルが得られた。このモデルを元に LOOCV により得られた判別得点のヒストグラムを図 5 に示す。判別得点が正の場合を国産と判別するとき、モデル構築用試料のうち国産試料の 98.6% (73/74)、外国産試料の 86.7% (26/30) を正しく判別し、元素分析及び Sr 安定同位体比分析それぞれ単独の分析による判別に比べ判別精度の向上がみられた。

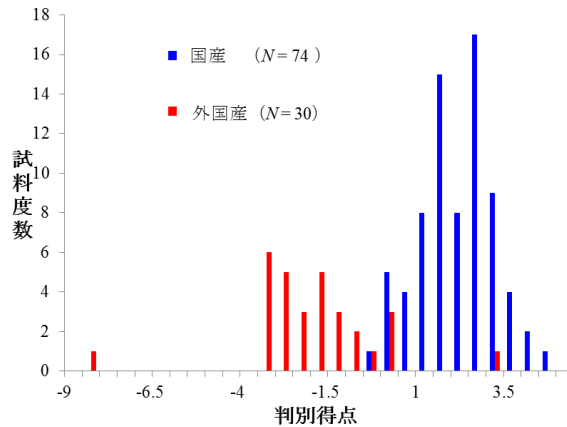


図5 元素濃度とSr安定同位体比を組み合わせた判別モデルにおける国産と外国産のヒストグラム

3.5 炭素安定同位体比とSr安定同位体比の組合せ

炭素安定同位体比とSr安定同位体比の組合せによる国産と外国産の判別モデルが得られた。このモデルを元に LOOCV により得られた判別得点のヒストグラムを図6に示す。判別得点が正の場合を国産と判別するとき、モデル構築用試料のうち国産試料の100% (74 / 74)、外国産試料の80.0% (24 / 30) を正しく判別し、炭素安定同位体比及びSr安定同位体比それぞれ単独の分析による判別に比べ判別精度の向上がみられた。

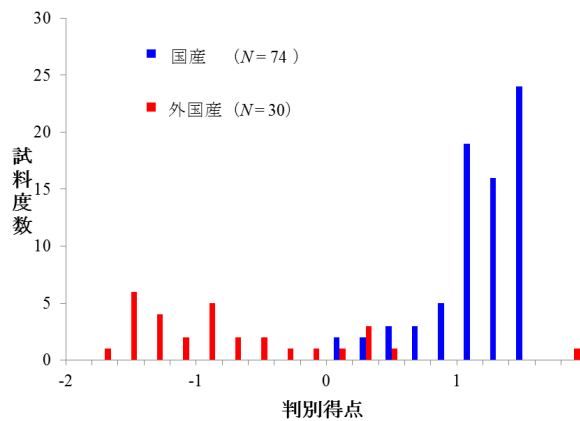


図6 炭素安定同位体比とSr安定同位体比を組み合わせた判別モデルにおける国産と外国産のヒストグラム

3.6 複数の検査法を組み合わせた判別

元素濃度、炭素安定同位体比、Sr安定同位体比の単独の判別モデルに対して、3.4及び3.5のように元素濃度又は炭素安定同位体比とSr安定同位体比の組合せによる判別モデルでは、国産又は外国産的中率が向上し、複数の分析法を組み合わせることで判別精度が向上する結果が得られた。一方、複数の分析法を組み合わせることで、検査に要する時間・費用は増大することになるため、検査の目的を考慮して分析法を選択する必要がある。

4. まとめ

FAMIC では元素分析に基づくサトイモ原産地判別法による検査を実施してきたが、判別検査法の作成から長期間が経過したことから、判別モデルを再構築することが望まれていた。新たに軽元素（炭素及び酸素）安定同位体比分析及び Sr 安定同位体比分析を行い、各分析法単独又は組合せによる判別精度の向上について検討を実施した。各分析法単独では判別精度の高い産地判別は困難であったが、元素濃度と Sr 安定同位体比、Sr 安定同位体比と炭素安定同位体比を組み合わせることで、判別精度を向上させることが可能であった。

謝 辞

本研究を実施するにあたり、ご協力やご助言をいただきました農業協同組合、商社、輸入業者ほかの皆様にご心より御礼申し上げます。

文 献

- 1) 平成 29 年産野菜生産出荷統計，農林水産省（2017）
- 2) 平成 29 年貿易統計、財務省（2017）
- 3) 東京都中央卸売市場業務部普及課編：「東京都中央卸売市場年報:平成 29 年農産物編」、東京都（2017）
- 4) 「安全で信頼性、機能性が高い食品・農産物供給のための評価・管理技術の開発」（食品・農産物の表示の信頼性確保と機能性解析のための基盤技術の開発）[信頼性（第 2/3 編）] プロジェクト研究成果シリーズ 492，農林水産省農林水産技術会議事務局，p. 36（2013）
- 5) Nakamura, S.; Suzuki, T.; Horita, H.; Nakano, A.: Detection of falsely labeled taro in Japan by elemental analysis: improvement of discrimination ability using a sampling plan, *Food Sci. Technol. Res.*, **18**(5), 723–733(2012)
- 6) 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**（11），969-978（2003）
- 7) 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）
- 8) 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）
- 9) 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食品関係等調査研究報告*，**37**，1-10（2013）
- 10) 森田先恵，伊澤淳修，申基澈，中野孝教：元素分析及びストロンチウム安定同位体比分析による冷凍ほうれんそう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*，**39**，31-37（2015）
- 11) 石井修人，箱田晃子：原木栽培乾しいたけの元素分析及び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，*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*，**40**，9-16（2017）