

元素分析及びストロンチウム安定同位体比分析による オクラの原産地判別検査法の開発

後藤 祐之介¹, 小岩 智宏², 申 基澈³, 陀安 一郎³

Yunosuke Gotou, Tomohiro Koiwa, Ki-Cheol Shin, Ichiro Tayasu

要 約

生鮮オクラの原産地判別法の検討を元素分析及びストロンチウム安定同位体比 ($^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ 、以下「Sr 安定同位体比」という。) 分析により行った。国産のオクラ 63 試料及び外国産のオクラ 81 試料 (フィリピン産 45 試料、タイ産 36 試料) を収集し、17 元素の濃度及び Sr 安定同位体比を測定した。国産と外国産の判別モデルを元素濃度と Sr 安定同位体比を用いて構築した。偽陽性率 (国産品を誤って陽性と判別する確率) が最小となる値を基準値とした場合の判別率 (中率は、元素濃度による判別モデルでは国産 100 %、外国産 67.9 %であった。元素濃度と Sr 安定同位体比を組み合わせた判別モデルでは国産 100 %、外国産 88.9 %となり、元素濃度単独で構築した判別モデルと比較して判別精度が向上する結果が得られた。

1. はじめに

一般用生鮮食品としてのオクラの表示にあつては、食品表示法 (平成 25 年法律第 70 号) に基づく食品表示基準 (平成 27 年内閣府令第 10 号 (平成 27 年 4 月 1 日施行)) において、名称及び原産地の表示が義務付けられ、原産地については原則、国産品にあつては都道府県名を、輸入品にあつては原産国名を表示しなければならない。

平成 26 年のオクラの国内出荷量は約 11,000 トン¹⁾であるのに対し、生鮮オクラの輸入量は約 6000 トン²⁾である。外国産生鮮オクラの主な輸入先は、フィリピン (総輸入量の 63 %)、次いでタイ (同 37 %) である。平成 26 年の東京都中央卸売市場のオクラの月別入荷実績³⁾では、4 月～6 月、10 月～12 月は国産品と輸入品の両方が入荷されている。一方、オクラの価格は、国産品と輸入品の間に約 1.5 倍の差があるため、産地偽装が懸念され、原産地表示の真正性を確認するための科学的手法が必要である。食品における原産地に関する科学的検証法は、元素分析や安定同位体比分析を利用した方法が報告されている^{4) -11)}。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、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手法も報告されている^{12) -15)}。

そこで、Sr 安定同位体比分析と元素分析との組み合わせによる国産と外国産 (フィリピン産及びタイ産) のオクラの判別法を検討したので報告する。

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

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

収集試料の内訳を表1に示した。国産試料については都道府県別の生産量¹⁾ (平成22、24、26年の平均)の割合に応じて63点を収集し、外国産試料については国ごとの輸入量²⁾ (平成25~27年の平均)の割合に応じて81点(フィリピン産45点、タイ産36点)を収集した。

表1 収集試料の内訳

	原産地	試料数	生産割合(%)
国産	鹿児島	17	39.4
	高知	7	16.1
	沖縄	4	9.8
	熊本	3	6.3
	宮崎	3	5.0
	福岡	3	4.5
	徳島	3	3.7
	群馬	3	2.5
	香川	3	2.1
	秋田	4	0.9
	新潟	3	0.7
	愛知	4	0.6
	東京	3	0.5
	大阪	3	0.4
	計	63	92.4
	外国産	フィリピン産	45
タイ産		36	38.9
計		81	100

2.2 試薬

実験に使用した水は、超純水製造装置(Milli-Q Element A10、メルクミリポア)で製造した超純水(比抵抗値18 MΩ・cm以上)である。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)、48%フッ化水素酸(Ultrapur-100、関東化学)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(ICP分析用)を適宜希釈して調製した。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

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、誘導結合プラズマ質量分析装置(ICP-MS)(820MS、Varian(現Agilent Technologies))及び誘導結合プラズマ発光分光分析装置(ICP-OES)(725-ES、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計(MC-ICP-MS)(Neptune Plus、Thermo Fisher Scientific)を用いた。

2.4 試料調製

樹脂製ネット等に入っている同一ロットの商品からオクラ約100gを抽出し用いた。オクラ全体を超純水で洗浄しセラミック製包丁で皮を除去した後、ミキサーを用いて粉碎試料とした。

2.5 酸分解

粉碎試料約5.0gを採取した樹脂製ヒータブルビーカーに61%硝酸を10mL加え、樹脂製時計皿でふたをし、120℃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

(注) 国産試料の収集は、農林水産消費安全技術センターの安藤峰央、野村ともみ、今村正彦、田口真希、堤光典、琵琶隆史、伊澤淳修、坪根政文、荒尾祐子が担当した。

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。次に時計皿を外し、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、50 mL 容樹脂製全量フラスコに移す操作を 3 回繰り返す。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。次に元素濃度測定用試料溶液 (Sr が 200~400 ng 含まれる量) を 200 °C 程度で蒸発乾固した。放冷後、61 %硝酸 0.5 mL 及び 48 %フッ化水素酸 0.1 mL を加え、100 °C で 30 分加温した後、蒸発乾固した。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 元素濃度及び Sr 安定同位体比の測定

元素濃度は、ICP-MS 及び ICP-OES を用いて内標準法 (内標準 : In) により表 2 の測定条件で測定した。Sr 安定同位体比は、MC-ICP-MS を用いて表 3 の測定条件で測定した。測定により得られた試料や SRM987 の Sr 安定同位体比の補正は井伊ら¹¹⁾に準じ、結果の解析等にはこの補正後の値を用いた。

表 2 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	1.3 kW	1.20 kW
プラズマガスフロー	15.5 L/min	15.0 L/min
補助ガスフロー	1.55 L/min	1.50 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	5 rpm	15 rpm

表 3 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	0.85-1.00 L/min
ネブライザー (吸入量)	PFA (100µL/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	50

2.8 水分測定

水分測定は石井ら¹⁰⁾の方法に従った。粉碎試料約 5.0 g をアルミ箔容器に採取して、恒温乾燥器を用いて 70 °C で 24 時間乾燥し、乾燥前後の重量差により、粉碎試料中の水分含有量を求めた。水分含有量は、各元素の粉碎試料中濃度から乾燥重量あたりの濃度 (以下「乾燥試料中濃度」という。) を求めるのに用いた。

2.9 判別モデルの構築

2.7 で得られた収集試料の元素濃度及び Sr 安定同位体比を判別モデルの構築に用いた。乾燥試料中元素濃度の常用対数、K に対する濃度比の常用対数及び Sr 安定同位体比を説明変数として、サポートベクターマシン及び二次判別分析により判別モデルを構築した。サポートベクターマシンは R 3.5.3 (<http://www.r-project.org/>) の e1071 パッケージに同封されている svm 関数を、二次判別分析は MASS パッケージに同封されている QDA 関数を用いた。解析は中村ら⁶⁾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 元素濃度

収集試料（国産試料 63 点、フィリピン産試料 45 点、タイ産 36 点）の各元素の乾燥試料中濃度を表 4 に示す。

表 4 収集試料の各元素の乾燥試料中濃度 (mg/kg)

	国産 (n=63)		フィリピン (n=45)		タイ (n=36)	
	平均値	標準偏差	平均値	標準偏差	平均値	標準偏差
Li	0.08	0.2	0.03	0.02	0.09	0.1
Mn	50	36	71	52	45	34
Co	0.14	0.1	0.30	0.2	0.17	0.1
Ni	1.4	1	3.5	1.9	1.7	1
Cu	7	2	8	1	8	1
Zn	48	10	44	10	50	7
Rb	16	12	84	47	48	27
Sr	23	23	52	15	28	15
Y	0.007	0.01	0.005	0.004	0.003	0.003
Mo	0.62	0.3	0.27	0.2	0.43	0.2
Cd	0.34	0.3	0.20	0.1	0.28	0.2
Cs	0.05	0.1	0.22	0.3	0.14	0.1
Ba	16	24	38	30	15	11
P	5243	473	5065	596	5565	362
Ca	7734	1422	8497	1451	10390	1703
Mg	4450	512	5609	597	5035	383
K	24388	2140	23532	2667	25293	1679

3.2 Sr 安定同位体比

収集試料の Sr 安定同位体比の度数分布を図 1 に示す。平均値±標準偏差は、国産試料 (n = 63) は 0.7091 ± 0.001、フィリピン産試料 (n = 45) は 0.7055 ± 0.001、タイ産試料 (n = 36) は 0.7171 ± 0.004 となり、3 カ国間の分布範囲はそれぞれ分かれる傾向が見られた。分散が等しくないとして仮定した t 検定では、国産試料とフィリピン産試料、国産とタイ産試料の平均値間に有意な差が確認された (p < 0.01)。

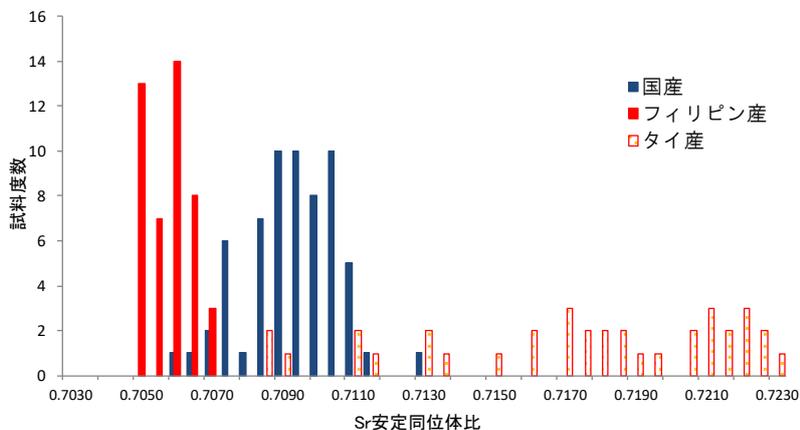


図 1 オクラの Sr 安定同位体比の度数分布

3.3 元素濃度による判別の検討

国産試料 ($n = 63$) と外国産試料 ($n = 81$) の乾燥試料中元素濃度を用いて、国産－外国産判別モデルを構築した。サポートベクターマシンにより 12 元素 (Mn、Co、Ni、Cu、Rb、Mo、Cd、Cs、Mg、P、K 及び Ca) の常用対数を説明変数とする判別モデル (model I)、ガウスクーネルサポートベクターマシンにより 10 元素 (Mn、Co、Ni、Rb、Mo、Cs、Ba、Mg、Zn 及び Sr) の K に対する濃度比の常用対数を説明変数とする判別モデル (model II)、二次判別分析により 12 元素 (Li、Mn、Co、Cu、Rb、Mo、Cs、Ba、Mg、P、Ca 及び Zn) の常用対数を説明変数とする判別モデル (model III) が得られた。

国産を陰性、外国産を陽性として、それぞれの判別モデルについて、偽陽性率 (国産品を誤って陽性と判別する確率) を横軸に、感度 (外国産品を陽性と正しく判別する確率) を縦軸にプロットした Receiver Operating Characteristic (ROC) 曲線を図 2 に示す。3 つの判別モデルの中で偽陽性率が 0.1 以下の時の感度が最も高い値をとる Model I は、特異度 (国産品を陰性と正しく判別する確率) を最大に設定したい時に最適な判別モデルといえる。また、3 つの判別モデルの中で感度が 0.99 の時の偽陽性率が最も低い値となる model II は、偽陰性率 (外国産品を誤って陰性と判別する確率) を最小に設定したい時に最適な判別モデルといえる。

判別モデルの ROC 曲線が、左上 (偽陽性率が最小 0、感度が最大 1) に最も近い位置にある model I は、特異度・感度ともに高い判別精度が得られる判別モデルである。model I について、LOOCV により得られた判別得点の度数分布を図 3 に示す。判別得点が基準値以上の場合は国産、基準値未満の場合は外国産と判別することとし、その基準値を 0 とした場合、この国産－外国産判別モデルでは、判別モデル構築に用いた試料のうち、国産試料の 93.7% (59/63)、外国産試料の 92.6% (75/81) を正しく判別した。また、偽陽性率が最小となる値 (判別得点-1.5) を基準値とした場合は、国産試料は全てを正しく判別し外国産試料は 67.9% (55/81) を正しく判別した。

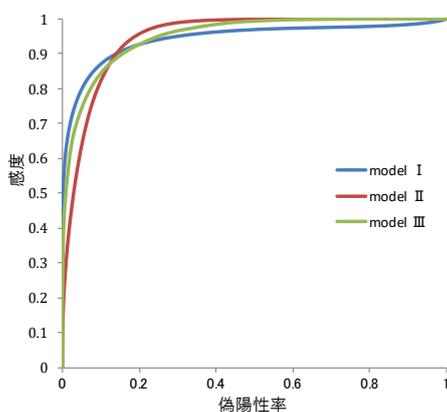


図 2 本研究で得られた判別モデルの ROC 曲線

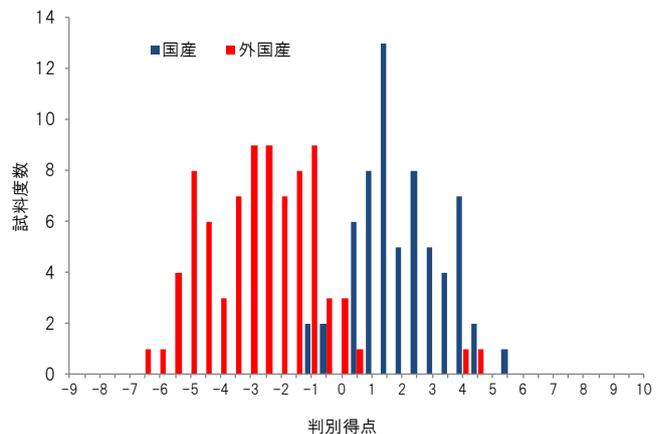


図 3 model I の判別得点の度数分布

3.4 元素濃度及び Sr 安定同位体比 の組合せによる判別の検討

国産試料 ($n = 63$) と外国産試料 ($n = 81$) の乾燥試料中元素濃度と Sr 安定同位体比を説明変数として、二次判別分析により国産－外国産判別モデルを構築した。LOOCV により得られた判別得点の度数分布を図 4 に示す。元素濃度による判別と同様に判別得点が基準値以上の場合は国産、基準値未満の場合は外国産と判別することとした。その基準値を 0 とした場合、この国産－外国産判別モデルでは、判別モデル構築に用いた試料のうち、国産試料の 95.2% (60/63)、外国

産試料の 93.8 % (76/81) を正しく判別した。また、偽陽性率が最小となる値 (判別得点-12) を基準値とした場合、国産試料は全てを、外国産試料は 88.9 % (フィリピン産 43/45、タイ産 29/36) を正しく判別し、元素濃度単独で構築した判別モデルよりも判別精度が向上した。

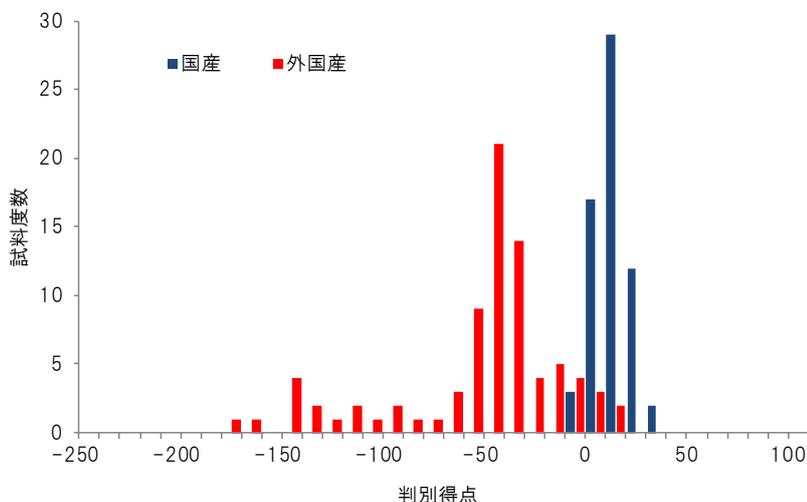


図4 元素濃度と Sr 安定同位体比による判別得点の度数分布

4. まとめ

本研究では、元素濃度と Sr 安定同位体比を利用したオクラの原産地判別法を検討した。元素濃度を説明変数とした判別モデルを検討したところ、サポートベクターマシンにより構築した判別モデルが最も判別精度が良かった。このモデルにおける判別モデル構築用試料の的中率 (判別得点-1.5 を基準値) は、国産 100 %、外国産 67.9 %であった。元素濃度と Sr 安定同位体比を組み合わせた判別モデルを二次判別分析により構築した。偽陽性率が最小となる値 (判別得点-12) を基準値とした場合、判別モデル構築用試料の的中率は、国産 100 %、外国産 88.9 %となり元素濃度単独で構築した判別モデルと比較して判別精度が向上する結果が得られた。なお、今後、生産地や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。

謝 辞

本研究を実施するにあたり、国産オクラの収集にご協力いただいた農業協同組合の皆様に深く感謝いたします。

文 献

- 1) 農林水産省地域特産野菜生産状況調査 (平成26年)
- 2) 農林水産省植物検疫統計 (平成26年輸入検査数量)
- 3) 東京都中央卸売市場年報 (平成26年)
- 4) 服部賢志, 木村康晴, 高嶋康晴, 法邑雄司: 無機元素分析によるニホンウナギ加工品の原産地判別, 日本水産学会誌, **75**(5), 844-848(2009)

- 5) 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)
- 6) 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)
- 7) 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)
- 8) 一色摩耶, 中村哲, 鈴木彌生子: 多元素同時分析によるアカシアはちみつの原料原産地判別, 日本食品科学工学会誌, **62**(5), 257-262(2015)
- 9) Aoyama, K.; Nakano, T.; Shin, K.C.; Izawa, A.; Morita, S. : Variation of strontium stable isotoperatios and origins of strontium in Japanese vegetables and comparison with Chinese vegetables, *Food Chemistry*, **237**, 1186-1195(2017)
- 10) 石井修人, 箱田晃子, 石原敏史, 山川義正: カボチャの元素分析による原産地判別法の改良, 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, **41**,1-7(2017)
- 11) 井伊悠介, 後藤祐之介, 石井修人, 申基澈, 陀安一郎: ストロンチウム安定同位体比分析による切干大根の原料原産地判別法の開発, 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, **42**,1-9(2018)
- 12) 石田悦基, 中村健治, 有山薫, 川崎晃: 微量元素濃度及び重元素同位体比を利用する小麦の産地判別, 分析化学, **63**(3), 255-261(2014)
- 13) 豊田正俊, 箱田晃子, 石井修人, 鈴木彌生子: はちみつのストロンチウム安定同位体比分析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, **41**, 22-30(2017)
- 14) 後藤祐之介, 伊澤淳修, 申基澈, 中野孝教: 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, 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**, 17-24(2017)
- 15) 松野和久, 井伊悠介, 寺田昌市, 太田民久, 申基澈, 陀安一郎: ショウガの元素分析及び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, 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, **41**,8-14(2017)