

# シヨウガの原産地判別法における分析時間短縮についての検討

中村 哲  
NAKAMURA Satoru

## 要約

元素分析及び Sr 安定同位体比分析を用いる現行のシヨウガの原産地判別法について、測定元素の変更、スクリーニング、酸抽出及び原子吸光分光光度計の使用を検討した。その結果、シヨウガから酸抽出した Rb の濃度を原子吸光分光光度計で測定してスクリーニングすることにより、元素分析の分析時間を 1 日程度短縮するとともに、Sr 安定同位体比分析の分析点数を半分程度に削減することが可能となった。

## 1. はじめに

シヨウガの原産地判別法は、平成 19 年に門倉ら<sup>1)</sup>が元素分析による方法を、平成 29 年には松野ら<sup>2)</sup>が元素分析及びストロンチウム (Sr) 安定同位体比分析による方法を報告している。松野らの方法は、シヨウガを酸分解し、元素分析を行った後、酸分解溶液を精製して Sr 安定同位体比分析を行う。また、乾燥試料中濃度を計算する都合上、固形分測定も実施する必要がある。松野らが報告した方法は、同一の生育環境で生育したシヨウガがほぼ同じ判別結果を与えるという点で優れているが、元素分析及び Sr 安定同位体比分析の両方の分析終了までに 1 週間以上かかるという問題点がある。このため、検査現場への負担が大きく、分析時間の短縮を図る必要があった。

松野らの報告を見ると、外国産 43 点の Rb の乾燥試料中濃度の最大値は 6.1 mg/kg であるが、この濃度は国産 55 点の中央値 9.4 mg/kg よりも低いため、Rb の乾燥試料中濃度でスクリーニングすることにより国産試料の半分程度について Sr 安定同位体比分析を行わずに済むことになる。Rb は誘導結合プラズマ質量分析装置 (ICP-MS) よりも安価な原子吸光分光光度計 (AAS) でも測定可能であることから、汎用性が向上すると考えられる。

本研究では、シヨウガの原産地判別法のうち、主に元素分析に係る部分の時間短縮を図るため、以下の 4 点の検討を行ったので報告する。

- (1) 判別モデルに使用する元素の変更
- (2) 元素分析によるスクリーニング
- (3) 元素分析における酸抽出の検討
- (4) 元素分析における AAS の使用

## 2. 実験方法

### 2.1 判別モデルの再検討

中村らの報告<sup>3,4)</sup>に準じて、松野ら<sup>2)</sup>が報告した元素分析の結果並びに元素分析及び Sr 安定同位体比分析の組合せについて教師付き分類を行った。ただし、モンテカルロ法の試行回数は各 10000

回とした。これにより、判別に使用する元素の削減を図った。また、元素分析によるスクリーニングを行った後、Sr 安定同位体比分析を行うため、元素分析による判別得点並びに元素分析及び Sr 安定同位体比分析の組合せによる判別得点の 2 次元分布を確認した。確認に当たっては、モンテカルロ法の試行のうち各 1000 回の結果を用いて、Duong & Hazelton の Plug in 法<sup>5)</sup>による 2 変量カーネル密度推定のバンド幅行列を得た後、その中央値を最終的なバンド幅行列として、モンテカルロ法の各結果を用いて、2 変量カーネル密度推定を行った。以上の操作を国産及び外国産のそれぞれについて実施した。

解析は R 4.0.2<sup>6)</sup>並びに R のパッケージ MASS 7.3-52、e1071 1.7-3 及び ks 1.11.7 により行った。

## 2.2 試料

国産と表示された市販のショウガ試料1点（約20個体）を入手し、松野らの方法<sup>2)</sup>に従い、皮、切断痕及び食害痕を除去した後、2～3 mm程度角の細切試料とし、全個体分を混合したものを品質管理用試料とした。

これとは別に、いずれも4個体以上のショウガ市販品で国産と表示されたもの7点及び外国産（全て中国産）と表示されたもの3点を試料として入手した。これらについても品質管理用試料と同様の手順で細切試料を調製し、各試料のうち2～5個体分を混合したもの（混合試料）を1試料当たり2点、計20点用意した。

## 2.3 試薬

実験には、超純水製造装置（MilliQ integral、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。試料の酸抽出には、61 %硝酸（高純度電子工業用、関東化学）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）及び70 %過塩素酸（TAMAPURE AA-100、多摩化学工業）を用いた。元素濃度測定用の検量線用標準溶液は、単元素標準溶液（Li、Mg、Mn、Co、Cu、Zn、Rb、Sr、Mo、Cd、Ba及びCe、ICP分析用）を適宜希釈して調製した。AASにおける干渉を補正するため、RbのAAS用標準溶液には、Kを320 mg/L含むよう、硝酸カリウム（Suprapur、メルクミリポア）の1 %硝酸溶液を加えた。

Srの精製には、Sr resin（50-100 μm、Eichrom Technologies）を用いた。

## 2.4 装置

元素濃度の測定には、ICP-MS（Agilent 7800 ICP-MS、Agilent Technologies）及び誘導結合プラズマ発光分光分析装置（ICP-OES）（iCAP 6300 Duo、Thermo Fisher Scientific）並びに原子吸光分光光度計（AAS）（AA-6800、島津製作所）を用いた。Sr安定同位体比の測定には、高分解能誘導結合プラズマ質量分析装置（HR-ICP-MS）（ELEMENT XR、Thermo Fisher Scientific）を用いた。

## 2.5 酸抽出及び酸分解

酸抽出は、次の手順で行った。まず、細切試料約30 gを恒温乾燥器で100 °C、16時間以上乾燥した後、樹脂製袋に入れてハンマーで粉碎した。次に、樹脂製遠心チューブに粉碎試料0.5～0.6 gをひょう量し、1 %硝酸15 mLを添加して、1回/秒で30回転倒混和した後、1500 ×g以上で3分間遠心分離を行い、上澄みを採取した。1 %硝酸の添加から上澄みの採取までを計3回行い、全ての上澄みを合わせた後、1 %硝酸で50 mLに定容した。酸抽出溶液には、ICP-MSの内標準としてInを5 μg/Lの濃度で添加した。定容後の酸抽出溶液約20 mLをメンブレンフィルターでろ過し、最初の約5 mLを廃棄した残りの液を酸抽出溶液として以降の操作に供した。

また、酸抽出との比較用として、松野らの方法<sup>2)</sup>による品質管理用試料の酸分解溶液を供した。品質管理用試料は、最初の分析ランにおいて酸抽出及び酸分解を7点併行で実施し、以降は酸抽出を2点併行で実施した。また、品質管理用試料については、添加回収試験を2点併行で実施した。その他の試料は全て酸抽出を2点併行で実施した。

## 2.6 ICPによる元素濃度の測定

酸抽出溶液及び酸分解溶液のLi、Co、Cu、Zn、Rb、Mo、Cd及びCeの濃度をICP-MSにより、Mg、Mn、Sr及びBaの濃度をICP-OESにより測定した。測定条件は表1のとおりとした。

表 1 ICP-MS及びICP-OESの条件

プラズマ条件	ICP-MS	ICP-OES
RFパワー	1.55 kW	1.15 kW
プラズマガスフロー	15.0 L/min	13 L/min
補助ガスフロー	0.9 L/min	0.5 L/min
ネブライザガスフロー	1.07 L/min	0.5 L/min
ポンプ速度	6 rpm	25 rpm

## 2.7 AASによる元素濃度の測定

酸抽出溶液のRbの濃度を表2の条件でAASにより測定した。

表 2 AASの条件

条件	AAS
フレーム種類	アセチレン-空気
燃料ガス流量	1.8 L/min
積分時間	7 s
繰返し回数	1回
バックグラウンド補正	なし
波長	780.0 nm

## 2.8 Sr安定同位体比の測定

酸抽出溶液については、Sr 80 ng相当量を樹脂製ヒータブルビーカーに採取し、200 °Cで溶液を乾固した後、61 %硝酸4 mL及び70 %過塩素酸1 mLを添加して、乾固するまで200 °Cで加熱を続けることにより酸分解を行った。酸分解溶液については、Sr 80 ng相当量を樹脂製ヒータブルビーカーに採取し、200 °Cで溶液を乾固した。8 mol/L硝酸6 mLによりビーカー中の乾固物を溶解し、これをSr resinに負荷した。8 mol/L硝酸3 mLを添加してSr resinを洗浄した後、0.05 mol/L硝酸 2 mLでSr を溶出させた。溶出液のSrの濃度をICP-MSで測定した後、Sr濃度が20 µg/Lとなるよう0.05 mol/L硝酸で希釈し、溶液のSr安定同位体比をHR-ICP-MSにより測定した。HR-ICP-MSによる測定手順は篠崎ら<sup>7)</sup>の方法に従った。

## 3. 結果及び考察

### 3.1 判別モデル

判別モデルを再構築した結果、Rb の乾燥試料中濃度を変数変換した値並びに Rb の乾燥試料中濃度及び Sr 安定同位体比の組合せで判別モデルが得られた。再構築した判別モデルの判別得点の2変数カーネル密度推定分布を図1に示す。図1のとおり、Rb の乾燥試料中濃度でスクリーニングを行うことにより、国産試料の半分程度について Sr 安定同位体比分析を行わずに済むことが確

認められた。このため、以降の検討において AAS で測定する元素は Rb のみとした。

新たな判別モデルを用いて、Rb の乾燥試料中濃度でスクリーニングを行い、Rb の乾燥試料中濃度及び Sr 安定同位体比の組合せによる判別得点が負の場合を外国産、それ以外を国産としたとき、国産試料の 100 % (55/55)、外国産試料の 93 % (40/43) を正しく判別した。

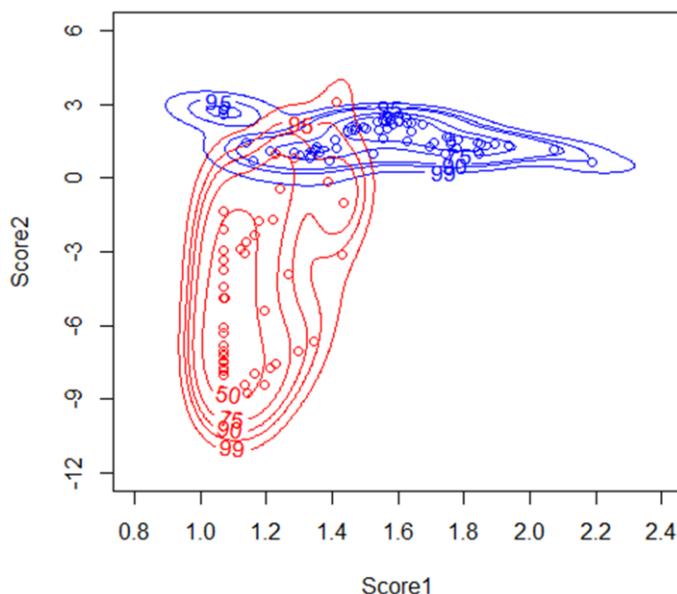


図1 Rb濃度の変数変換及び判別得点の2変量カーネル密度推定

Score1 : Rb濃度の変数変換

Score2 : Rb濃度及びSr安定同位体比の組合せによる判別得点

青 : 国産、赤 : 外国産

50、75、90及び99はそれぞれ分布の50%、75%、90%及び99%が含まれる等高線

### 3.2 酸抽出及び酸分解による元素分析

ICP及びAASによる品質管理用試料7点の酸抽出及び酸分解の乾燥試料中濃度の比較を表3に示す。Mo及びCe以外については、酸抽出及び酸分解のICPによる濃度比が0.93~1.09であり、ほぼ同等の結果であった。RbのAASの結果についても同様であった。また、併行精度については、酸抽出の方が酸分解よりも全体的に良好な結果となった。これは、試料を乾燥して粉砕することにより、細切試料よりも均質性が高くなったためと考えられた。一方、Moについては酸抽出において低回収率となったが、Moは酸抽出効率が他の元素よりも低く、真度に問題があると考えられた。Ceも酸分解と比較すると酸抽出の結果が低くなったが、Horwitzの修正式<sup>8)</sup>による再現相対標準偏差が22%であることから、明確に問題があるとまでは言えなかった。Coについては添加回収試験において2点中1点が高回収率となったが、この結果は試料の保管に使用していたシルカゲルデシケーターからの汚染を受けたものと考えられ、対策を取った後の分析では問題がなかったことから、分析法自体には問題ないものと考えられた。品質管理用試料の酸抽出は、以降のランでは2点併行で実施したが、Liにおいて管理外れが発生した。原因は試料の乾燥に使用した器具の汚染が考えられたが、明確には判明しなかった。

本来であれば、中村らの方法<sup>3)</sup>により方法の変更に伴う不確かさを計算するのが望ましいが、前述のとおり、酸分解の結果は細切試料の均質性の問題により併行精度が他の野菜類の酸分解の結果と比較すると悪い。酸分解における併行相対標準偏差は、Horwitzの修正式による再現相対標

標準偏差の 0.22~1.10 倍（全体としては 0.62 倍）であり、方法の変更に伴う標準不確かさを計算すると Horwitz の修正式による再現相対標準偏差の 0.44 倍程度の値となってしまう。この影響により、仮に問題ない分析結果だったとしても、見かけ上の不確かさが増大してしまうとともに、別の方法、例えば検定による比較を行った場合も検出力が低くなってしまふ。このため、品質管理用試料以外の試料について酸分解との比較を実施しなかった。

混合試料 20 点の酸抽出による試料の ICP 及び AAS による Rb 濃度の測定結果の比較を図 2 に示す。ICP との濃度比は 0.88~1.03 であり、ショウガの Rb の乾燥試料中濃度の Horwitz の修正式による再現相対標準偏差が 9~17%であることを考慮すると、おおむね同等であると考えられた。Rb を AAS で測定する場合の条件については Tanaka ら<sup>9)</sup>が条件を検討しているが、ショウガにおける元素濃度を考慮すると、K の干渉が最も影響が大きく、他の元素はほとんど影響しないものと考えられた。そのため、ショウガ酸抽出溶液における K 濃度を 320 mg/L 程度として、標準溶液に K を添加することで干渉を低減した。K の添加量を 320 mg/L とした場合及び 0~480 mg/L とした場合（いずれも 2 点併行）の比較を図 3 に示す。K の濃度が 160~480 mg/L の範囲で定量値の比が 0.90~1.10 の範囲に収まっており、ショウガ試料の濃度比の結果とほぼ一致した。

混合試料 20 点の 2 点併行の結果から計算した酸抽出における併行相対標準偏差は、ICP では Horwitz の修正式による再現相対標準偏差の 0.14~0.73 倍（Mo を除く。）、AAS では Horwitz の修正式による再現相対標準偏差の 0.37 倍であった。

AAS における Rb の検出限界は溶液中濃度換算で 6 µg/L（乾燥試料中濃度換算で 0.56 mg/kg）であり、Tanaka ら<sup>9)</sup>の報告値 6.5 µg/L と概ね一致した。なお、装置によってはこの値を満たさないことがあるため、判別モデルの計算に当たっては 15 µg/L（乾燥試料中濃度換算で 1.4 mg/kg）を用いた。

松野らの方法<sup>2)</sup>では、酸分解を行った後 ICP-MS 及び ICP-OES による測定が必要であり、固形分測定も必要であることから、分析には 4 日程度を要していたが、酸抽出及び AAS を使用した場合は 3 日程度で分析可能となった。また、酸抽出を行うことにより酸分解を行う点数が削減されるため、過塩素酸対応ドラフトの使用頻度が下がり汎用性が高くなるとともに、硝酸及び過塩素酸の使用量も削減することが可能となった。

表 3 品質管理用試料の酸分解及び酸抽出の比較

元素	酸抽出・ICP			酸分解・ICP			酸抽出・AAS		
	平均 (n = 7) (mg/kg)	標準偏差 (n = 7) (mg/kg)	添加回収率 平均 (n = 2) (%)	平均 (n = 7) (mg/kg)	標準偏差 (n = 7) (mg/kg)	添加回収率 平均 (n = 2) (%)	平均 (n = 7) (mg/kg)	標準偏差 (n = 7) (mg/kg)	添加回収率 平均 (n = 2) (%)
Li	4.8×10 <sup>-3</sup>	0.6×10 <sup>-3</sup>	110	4.9×10 <sup>-3</sup>	0.7×10 <sup>-3</sup>	108			
Mg	2716	91	109	2550	102	90			
Mn	124.2	4.1	108	117.2	6.6	93			
Co	12.0×10 <sup>-3</sup>	0.4×10 <sup>-3</sup>	183	12.9×10 <sup>-3</sup>	1.3×10 <sup>-3</sup>	103			
Cu	3.60	0.08	104	3.77	0.18	95			
Zn	38.6	0.7	105	39.3	2.5	89			
Rb	27.7	0.2	112	26.5	1.1	95	27.4	0.6	105
Sr	4.39	0.10	103	4.05	0.12	95			
Mo	0.59	0.01	63	1.16	0.11	98			
Cd	0.129	0.003	108	0.130	0.013	99			
Ba	41.1	0.9	102	38.4	2.7	91			
Ce	24.2×10 <sup>-4</sup>	0.9×10 <sup>-4</sup>	101	30.9×10 <sup>-4</sup>	1.4×10 <sup>-4</sup>	103			

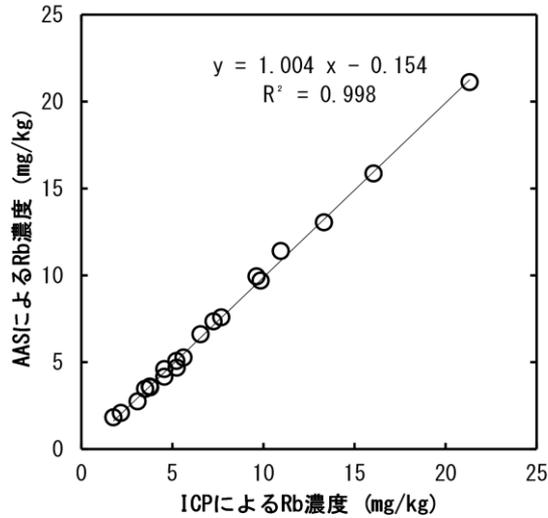


図2 酸抽出溶液の ICP 及び AAS による Rb 濃度の比較

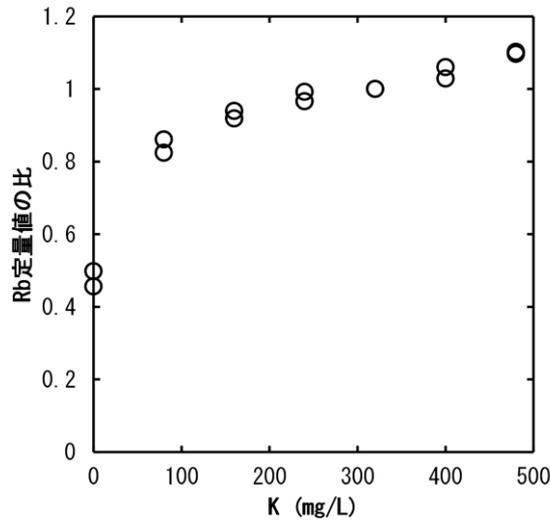


図3 AAS における Rb 定量値の K の干渉

### 3.3 Sr 安定同位体比分析

品質管理用試料の7点併行の平均値及び標準偏差は酸抽出溶液で0.70856及び0.00027、酸分解溶液で0.70837及び0.00028であり、有意な差は見られなかった。混合試料20点の2点併行の結果から得られた併行標準偏差の値は0.00035であり、HR-ICP-MSにおける併行標準偏差の報告値0.00033~0.00040<sup>7)</sup>と一致した。Srは酸抽出において十分回収できており、その後のSr resinによる精製工程並びに精度及び真度についても問題なかったことから、十分な精確さで測定できていることが確認された。

## 4. まとめ

ショウガの原産地判別法について、元素分析の測定元素をRbのみとし、酸抽出を行いAASで測定してスクリーニングを行う方法を開発した。その結果、元素分析の分析時間を1日程度短縮するとともに、Sr安定同位体比分析を行う点数を半分程度に削減することが可能となった。

## 文献

- 1) 門倉雅史, 有山薫: 無機分析によるショウガの原産国判別法の開発, 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, **31**, 8-15 (2006)
- 2) 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)
- 3) 中村哲, 法呂雄司, 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)
- 4) 中村哲: 元素分析によるネギの原産地判別マニュアルの検証, 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, **43**, 1-11 (2019)
- 5) Duong, T.; Hazelton, M. L.: Plug-in Bandwidth Matrices for Bivariate Kernel Density Estimation. *Nonparametr. Statist.*, **15**, 17-30 (2003).
- 6) The R Project for Statistical Computing, R Foundation for Statistical Computing, 2021-08-18, <<https://www.r-project.org/>>
- 7) 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)
- 8) Thompson, M.: Recent Trends in Inter-laboratory Precision at ppb and Sub-ppb Concentrations in Relation to Fitness for Purpose Criteria in Proficiency Testing. *Analyst*, **125**, 385-386 (2000).
- 9) Tanaka, G.; Tomikawa, A.; Kawamura H.: Determination of Rubidium in Biological Materials Using Atomic Absorption Spectroscopy. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **50**(9), 2310-2316 (1977).