

## 超高度エネルギー分散型蛍光 X 線分析装置による 乾しいたけの栽培方法及び原料原産地判別法の検証

森 良種

Yoshitane Mori

### 要 約

これまでに、超高度エネルギー分散型蛍光 X 線分析装置を用いて、乾しいたけの栽培方法及び原料原産地の判別について検討し、栽培方法、原料原産地の両判別モデルを構築することができた。今回は、これらの判別モデルが複数試験室で運用できるかを検討するため、原料原産地及び栽培方法を非明示にした試料を用いて3試験室で栽培方法及び原料原産地の予測試験を行った。その結果、これまでに構築した判別モデルでは、当初想定した予測精度が得られなかった。このため、新たな元素濃度データを追加し、栽培方法を判別するモデルを再構築することにより原木栽培品と菌床栽培品を精度良く予測でき、また、原料原産地を判別するモデルを再構築することにより日本産原木栽培品と中国産原木栽培品を精度良く予測できた。

以上により、超高度エネルギー分散型蛍光 X 線分析装置による元素分析は、乾しいたけの栽培方法及び原料原産地の簡便な予測に複数の試験室で利用できることが示唆された。

### 1. はじめに

現在、農林水産消費安全技術センターでは、ICP-AES・ICP-MS を利用した元素分析により、ネギ<sup>1)</sup>、タマネギ<sup>2)</sup>などを対象とした原産地判別技術が実用化されている。しかし、この手法は試料の前処理が煩雑で時間を要するため、簡便かつ迅速な原産地判別技術の開発・改良が求められてきた。

これまで、蛍光 X 線分析装置による食品の元素分析では、簡便な前処理により元素濃度が測定できる一方、感度不足のため微量の元素濃度の測定は困難であった。最近になり、3次元偏光光学系及び100 kV 管球やゲルマニウム検出器等の採用により、元素の検出限界が従来の装置に比べ約10倍近く向上した高感度のエネルギー分散型蛍光 X 線分析装置(以下「新型 EDXRF」という。)が開発・製品化され、食品中の微量元素においても簡便な前処理で sub-ppm オーダーの測定が可能となった<sup>3)</sup>。

そこで、新型 EDXRF を利用した元素分析の結果から、乾しいたけの栽培方法及び原料原産地の判別モデルを構築し、今回、この判別モデルが複数試験室で運用できるかの検討を行うとともに判別モデルを再構築したので報告する。

## 2. 実験方法

### 2. 1 試料

国産原木栽培品、中国産原木栽培品、中国産菌床栽培品について各 5 試料を利用した。

国産原木栽培品は財団法人日本きのこセンターから提供を受けたもの(静岡県産 2 試料、愛媛県産 2 試料、宮崎県産 1 試料)を用い、中国産原木栽培品及び中国産菌床栽培品は、法邑の報告において利用された試料の一部を用いた。

### 2. 2 試料調製

乾しいたけの柄、傘裏面のヒダを除き 8 等分程度に分割し、6 ~ 7 個分を十分に混合して、均等に 3 袋に分けて 3 試験室 (A、B、C) に配付した。配付された試験室は乾しいたけを 105 °C で 2 時間乾燥した。乾燥後、試料を粉末状に粉碎し、3 g をシリンダー型のプレス治具で 20 t の圧力で錠剤型に加圧成型し、測定に用いた。

### 2. 3 測定装置

測定装置はエネルギー分散型蛍光 X 線分析装置 Epsilon5 (PANalytical 製) を用いた。この装置は 3 つの直交する軸に配置した X 線源、試料、検出器から構成されるカルテシアン配置を採用することで高感度な分析が可能である。

### 2. 4 測定条件

測定対象元素は P、S、Cl、K、Ca、Mn、Fe、Cu、Zn、Rb、Sr、Zr、Mo、Cd、Cs 及び Ba の 16 元素とした。測定雰囲気は真空で行い、各元素の励起効率を最適化するため、2 次ターゲットには、上述の元素の励起効率から Si、CaF<sub>2</sub>、Fe、Ge、Mo、Ag、Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> を用いた。測定時間は、全体で約 1 時間であった。元素濃度の定量はファンダメンタル・パラメーター (FP) 法を用いて 2 点併行で測定した。

### 2. 5 統計解析

JUSE-StatWorks/V2.0 (日本科学技術研修所製) を用いて、線形判別分析を行った。

## 3. 結果及び考察

### 3. 1 これまでに構築した判別モデルによる乾しいたけの判別

これまでに構築した判別モデルの予測精度を検証した結果、当初想定した予測精度を得ることができなかった。栽培法判別モデル (式 1、2) の予測的中率は試験室 A において 100 %、試験室 B において 73 %、試験室 C において 87 % となり、菌床栽培品を「原木栽培品」と誤判別する傾向があった (表 1)。

$$Xg = 0.32674[Zn] - 5.95574 \dots \text{式 1}$$

$$Yk = 0.7976[Zn] - 34.6070 \dots \text{式 2}$$

ここで[Zn]は乾しいたけ中の Zn 濃度 (µg/g) を示す。栽培方法を判別したい試料の Zn 濃度を式 1、2 に代入し、 $Xg \geq Yk$  の場合は当該試料を原木栽培品、 $Xg < Yk$  の場合は菌床栽培品と予測する。

表 1 3 試験室による配布試料の栽培方法についての予測結果

配布試料	栽培法判別モデルによる各試料の判別得点 <sup>1)</sup>						
	試験室A		試験室B		試験室C		
	Xg	Yk	Xg	Yk	Xg	Yk	
国産原木栽培品	1	12.80	11.17	5.89	-5.70	5.15	-7.49
	2	7.68	-1.33	3.77	-10.86	4.50	-9.08
	3	6.99	-3.01	1.62	-16.11	3.19	-12.27
	4	6.03	-5.35	1.12	-17.32	2.54	-13.87
	5	6.43	-4.36	3.08	-12.56	4.17	-9.88
中国産原木栽培品	1	3.29	-12.04	1.81	-15.65	2.21	-14.67
	2	5.37	-6.97	2.58	-13.78	3.19	-12.27
	3	2.51	-13.95	0.83	-18.03	-0.07	-20.25
	4	0.17	-19.64	-1.01	-22.53	-0.40	-21.05
	5	10.10	4.59	5.04	-7.77	5.48	-6.69
中国産菌床栽培品	1	22.21	34.16	13.39	12.62	15.94	18.83
	2	21.56	32.56	11.29	7.50	4.50	-9.08
	3	25.08	41.15	16.09	19.20	18.22	24.42
	4	19.11	26.58	11.75	8.62	12.67	10.86
	5	18.92	26.11	9.56	3.27	14.63	15.64

1)  $Xg \geq Yk$  の場合は原木栽培品、 $Yk > Xg$  の場合は菌床栽培品と予測  
     は栽培方法又は原料原産地を正しく予測できた試料

また、原料原産地判別モデル (式 3、4) の予測的中率は A、B、C の 3 試験室でいずれも 50 % となり、すべての国産原木栽培品を「中国産原木栽培品」と誤判別した (表 2)。

$$Xig = 0.1828[Ca] - 0.0922[Rb] - 3.2392[Sr] + 14.0692[Mo]$$

$$+ 15.9210[Cd] + 19.5645[Cs] + 4.1543[Ba] - 38.4172 \dots \text{式 3}$$

$$Ycg = 0.2466[Ca] - 0.1941[Rb] - 9.7674[Sr] + 26.0142[Mo]$$

$$+ 21.1723[Cd] + 24.9921[Cs] + 8.1993[Ba] - 61.8362 \dots \text{式 4}$$

ここで [Ca]、[Rb]、[Sr]、[Mo]、[Cd]、[Cs] 及び [Ba] は乾しいたけ中の各元素濃度 (µg/g) を示す。原料原産地を判別したい試料の Ca、Rb、Sr、Mo、Cd、Cs 及び Ba 濃度を式 3、4 に代入し  $Xig \geq Ycg$  の場合は日本産原木栽培品、 $Xig < Ycg$  の場合は中国産原木栽培品と予測する。

表2 3 試験室による配布試料の原料原産地についての予測結果

配布試料	原料原産地判別モデルによる各試料の判別得点 <sup>1)</sup>						
	試験室A		試験室B		試験室C		
	X <sub>jg</sub>	Y <sub>cg</sub>	X <sub>jg</sub>	Y <sub>cg</sub>	X <sub>jg</sub>	Y <sub>cg</sub>	
国産原木栽培品	1	103.84	126.55	132.93	167.70	102.48	120.57
	2	101.29	128.67	106.61	135.06	79.74	96.74
	3	128.26	161.39	93.29	114.18	107.07	129.44
	4	91.66	111.30	76.26	92.78	86.72	105.66
	5	92.05	112.18	84.96	104.04	87.12	103.21
中国産原木栽培品	1	123.63	155.63	135.45	175.23	138.27	174.30
	2	143.88	179.50	135.21	173.95	134.03	167.63
	3	152.80	194.90	172.28	221.97	145.91	187.05
	4	113.46	146.33	79.97	97.43	105.88	133.60
	5	185.16	238.26	133.05	170.36	142.77	179.68

1) X<sub>jg</sub> ≥ Y<sub>cg</sub>の場合は日本産原木栽培品、Y<sub>cg</sub> > X<sub>jg</sub>の場合は中国産原木栽培品と予測は栽培方法又は原料原産地を正しく予測できた試料

### 3. 2 再構築した判別モデルを用いた乾しいたけの判別

以上の結果を踏まえ、新たな試料を追加して測定し、その結果に基づき判別モデルを再構築した。このモデルの検証は3試験室による栽培方法、原料原産地予測試験で得られたデータを使用した。

#### 3. 2. 1 栽培法判別モデル

再構築した栽培法判別モデルを式5に示す。

$$X = 28.408 - 0.01 \times [P] + 0.001 \times [K] + 0.832 \times [Mn] - 0.368 \times [Zn] \dots \text{式5}$$

ここで、[ ]内は各元素濃度(μg/g)を示す。各試料について、判別得点 X が 0 以上の場合には原木栽培品、0 未満の場合は菌床栽培品と予測する。統計的有意性を示す分散比は P が最も大きく、次いで Zn であった。このことから P が最も原木栽培品と菌床栽培品の判別に寄与していることがわかった。門倉ら<sup>4)</sup>は P、Zn が判別に貢献することを報告しており、今回の結果と一致している。モデル構築用試料の元素濃度 (μg/g) を表3に示す。再構築した判別モデルに、今回3試験室にて測定した元素濃度値を代入したところ、原木栽培品と菌床栽培品を精度良く判別することができた(表4)。

#### 3. 2. 2 原料原産地判別モデル

再構築した原料原産地の判別モデルを式6に示す。

$$Y = 17.654 - 0.002 \times [P] - 0.001 \times [S] - 0.071 \times [Ca] - 0.048 \times [Fe] + 0.858 \times [Cu] + 6.724 \times [Sr] - 9.966 \times [Mo] - 6.726 \times [Cd] \dots \text{式6}$$

ここで、[ ]内は各元素濃度(μg/g)を示す。各試料について、判別得点 Y が 0 以上の場合には国産原木栽培品、0 未満の場合には中国産原木栽培品と予測する。分散比は Ca と Cd が大きく、これらの元素が国産原木栽培品と中国産原木栽培品の判別に寄与していることがわかった。門倉らは Ca、Mo、Cd が判別に貢献することを報告しており、今回の結果と一致している。また、S は ICP-AES・ICP-MS で測定することが困難な元素として知られているが、新型 EDXRF では測定が可能であり、これが判別元素に貢献していることは新型 EDXRF の優位な点であると考えられた。再構築した判別モデルに、今回3試験室にて測定した元素濃度値を代入したところ、国産原木栽培品と中国産原木栽培品を精度良く判別

することができた (表 4)。

表 3 モデル構築用試料の元素濃度 (µg/g) と各判別モデル再構築時の分散比

	国産原木栽培品 n=41	中国原木栽培品 n=42	中国菌床栽培品 n=35	分散比 (栽培法判別)	分散比 (原料原産地判別)
P <sup>1)</sup>	2470 ± 447	2479 ± 407	6184 ± 942	150.13	2.89
S	2655 ± 787	3108 ± 943	6593 ± 3295	0.11	0.92
Cl	474 ± 128	445 ± 124	847 ± 189	4.56	1.38
K	22437 ± 2252	22471 ± 2003	31134 ± 3074	8.52	1.03
Ca <sup>2)</sup>	131 ± 38	172 ± 46	119 ± 67	0.37	53.86
Mn <sup>2)</sup>	16.3 ± 2.45	17.40 ± 3.22	18.41 ± 2.96	13.71	0.77
Fe	27.32 ± 13.79	39.62 ± 16.64	41.61 ± 13.96	1.16	4.11
Cu <sup>1)</sup>	6.72 ± 1.93	6.90 ± 1.79	10.28 ± 3.28	0.77	18.91
Zn <sup>1)</sup>	34.92 ± 6.29	33.69 ± 8.19	83.73 ± 15.16	42.08	0.01
Rb	58.06 ± 22.79	41.15 ± 21.24	62.51 ± 20.52	6.04	0.60
Sr	0.66 ± 0.24	0.72 ± 0.22	0.68 ± 0.23	0.01	13.58
Zr	0.35 ± 1.30	0.39 ± 0.62	0.37 ± 0.44	0.14	0.68
Mo <sup>1), 2)</sup>	0.11 ± 0.12	0.21 ± 0.12	0.43 ± 0.07	9.74	14.14
Cd <sup>2)</sup>	1.01 ± 0.25	1.35 ± 0.49	1.15 ± 0.44	0.11	43.52
Cs	1.90 ± 0.34	2.00 ± 0.43	1.82 ± 0.20	0.12	0.55
Ba	0.95 ± 0.17	1.31 ± 0.41	1.15 ± 0.41	1.45	1.01

表中濃度は乾燥重量当たりの平均値±標準偏差で表示

1) 門倉らが栽培法判別モデルに利用した元素

2) 門倉らが原料原産地判別モデルに利用した元素

表 4 新たに再構築した各判別モデルによる配布試料の再予測結果

配布試料	栽培法判別モデルによる各試料の判別得点X <sup>1)</sup>			
	試験室A	試験室B	試験室C	
国産原木栽培品	1	29.98	19.86	23.70
	2	27.95	22.15	21.45
	3	34.24	25.08	22.09
	4	29.84	19.62	18.74
	5	27.59	22.32	20.65
中国産原木栽培品	1	38.86	22.09	24.69
	2	36.27	27.65	23.08
	3	39.87	29.47	33.93
	4	39.54	28.85	31.97
	5	30.51	19.92	22.50
中国産菌床栽培品	1	-5.16	-9.74	-12.77
	2	-5.16	-9.13	-7.66
	3	-8.80	-14.61	-20.01
	4	-4.81	-8.33	-12.09
	5	-10.13	-12.99	-21.46
配布試料	原料原産地判別モデルによる各試料の判別得点Y <sup>2)</sup>			
国産原木栽培品	1	5.05	5.84	7.01
	2	6.38	3.10	5.09
	3	3.42	8.45	4.74
	4	7.92	12.41	11.46
	5	4.32	7.99	7.60
中国産原木栽培品	1	-8.16	-8.06	-11.97
	2	-9.10	-7.89	-8.11
	3	-5.15	-11.99	-7.97
	4	-5.20	-6.99	-3.99
	5	-26.76	-7.69	-9.50

1) X ≥ 0 の場合は原木栽培品、X < 0 の場合は菌床栽培品と予測

2) Y ≥ 0 の場合は国産原木栽培品、Y < 0 の場合は中国産原木栽培品と予測

以上により、再構築した判別モデルを用いることにより超高感度エネルギー分散型蛍光

X線分析装置による乾しいたけの栽培方法及び原料原産地判別を精度良く行うことができた。

新型 EDXRF と ICP-AES・ICP-MS による試料の前処理工程に要する時間を比較すると(乾しいたけ試料 15 点の前処理を想定した場合)、新型 EDXRF は約 30 分、一方 ICP-AES・ICP-MS では開放系での酸分解の場合には通常約 6～7 時間を要するため、新型 EDXRF を用いることにより簡易かつ迅速な検査の実施が可能であることが見込まれる。

#### 4. まとめ

今回の 3 試験室による原料原産地及び栽培方法の予測試験の結果、これまでに構築した両判別モデルでは、当初想定した予測精度が得られなかったが、再構築した判別モデルを用い、精度良く予測ができた。

以上により、超高感度エネルギー分散型蛍光 X 線分析装置による元素分析は、乾しいたけの栽培方法及び原料原産地の簡便な予測に複数の試験室で利用できることが示唆された。

#### 5. 謝 辞

本研究を行うに当たり、複数試験室の予測試験に協力していただきましたスペクトリス株式会社の鴨田氏、東京理科大学の中井教授及び日本生活協同組合連合会の嶋岡氏並びに試料を提供していただきました財団法人日本きのこセンターの時本氏に感謝を申し上げます。

#### 6. 文 献

- 1) Ariyama, K., Horita, H. and 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)
- 2) 田口陽嗣, 無機元素組成・含有量調査による青果物の産地判別— ICP-MS による青果物の無機元素分析及びタマネギの産地判別—, 農林水産消費技術センター調査研究報告, 26, 1-8 (2002).
- 3) 中井泉, 「蛍光 X 線分析の実際」, (朝倉書店, 東京), PP78 (2005).
- 4) 門倉雅史, 白井裕一, 有山薫, 無機元素分析による乾しいたけの原料原産地および栽培方法の判別, 日本食品科学工学会誌, 53, 489-497 (2006).