

カボチャの元素分析による原産地判別法の改良

石井 修人, 箱田 晃子, 石原 敏史, 山川 義正
Shuto Ishii, Akiko Hakoda, Toshifumi Ishihara, Yoshimasa Yamakawa

要 約

独立行政法人農林水産消費安全技術センター（FAMIC）が平成 22 年度に開発した種子を分析対象部位とする元素分析によるカボチャの原産地判別法を改良するため、国産（日本産）61 点及び外国産 84 点のカボチャを用いて、果肉を分析対象部位とする元素分析による原産地判別法の検討を行った。その結果、現在の主流な販売形態である 1/4 カット済み品にも対応可能な原産地判別法となった。また、新たな判別モデルは、既報の判別モデルより判別精度が向上することを確認した。

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、生鮮食品においては原産地などを表示することが義務付けられている。

カボチャについては、国産品と輸入品の流通時期は比較的分かれているが、その端境期では競合していることや、国産と外国産の品質差が比較的少ないなどの理由から原産地が偽装されることが懸念されるため、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てきた。

食品における原産地の科学的検証法は、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^{1) -3)}。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。

そこで、平成 22 年には、種子を分析対象部位とした元素分析によるカボチャの原産地を判別するための手法を独立行政法人食品総合研究所（現国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構食品研究部門）等と開発した^{4) -6)}。既報⁶⁾の判別モデル構築には 10 個体分の種子を、判別モデル検証には 1 個体分の種子を用いている。しかし、昨今の小売店舗におけるカボチャの販売実態は、1/4 カット済み品での販売が一般的であり、1/4 個体分の種子では既報と同様の粉碎を行うことが困難なケースも多くあることから、改良する必要があった。

平成 27 年におけるカボチャの輸入量は、国内流通量（国産出荷量 + 輸入量）の 4 割程度と、国内流通量に占める輸入品の割合が比較的高い状況で^{7) 8)}、国産が外国産より 1.5 倍程度高い価格となっており⁹⁾、依然として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ている。なお、主な輸入先はニュージーランド（総輸入量の 52 %）、メキシコ（同 41 %）である。

そこで、1/4 カット済み品にも対応可能な、果肉を分析対象部位とする元素分析によるカボチャ

の原産地判別法について検討したので報告する。

2. 実験方法

2.1 試料

収集試料の内訳を表1に示す。試料は、平成28年4月から平成29年9月にかけて、国産61点及び外国産84点を入手した。国産試料は出荷量⁷⁾の割合を参考に、農業協同組合などから入手し^(注)、外国産試料は商社、輸入業者などから入手した。

産地	点数	産地	点数
北海道	29	ニュージーランド	32
青森	1	メキシコ	41
秋田	1	ニューカレドニア	4
山形	1	韓国	4
茨城	3	トンガ	3
千葉	3		
神奈川	3		
石川	3		
長野	1		
岡山	3		
長崎	3		
宮崎	3		
鹿児島	4		
沖縄	3		

2.2 試薬

実験に使用した水は、超純水製造装置 (Milli-Q Integral3、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)、48%フッ化水素酸 (Ultrapure-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 (メルク、シグマアルドリッチ及びAccuStandard) を適宜希釈して調製した。また、Inの単元素標準溶液を内標準溶液として希釈調製し、検量線用混合標準溶液及び試料溶液に添加した。

2.3 装置

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) (Agilent 7500cx: Agilent Technologies) 及び誘導結合プラズマ発光分光分析装置 (ICP-OES) (iCAP 6300: Thermo Fisher Scientific) を使用した。

2.4 分析

2.4.1 試料調製

試料1点につき、1個体を抜き取り、セラミック製包丁で縦に1/4に切り、種及びわたを樹脂製薬さじを用いて丁寧に除去した。種及びわたを除去した1/4個体のカボチャを縦横に切って4等分し、対面となる一組を採取した。セラミック製包丁で皮を薄く除去し、ミキサーで粉碎したものを粉碎試料とした。

2.4.2 酸分解

粉碎試料約2.0g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った後に放冷し、70%過塩素酸を2.5mL加え、徐々に温度を上げながら180~230℃の範囲で加

(注) 国産試料の収集はFAMIC 吉田正伸、藤本正幸、上田恵理子、龍口久子、小玉光男、田口真希、小田一仁、坪根政文、荒尾祐子が担当した。

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 °C 程度で40分加温した。その後時計皿を外し、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回繰り返す。内標準としてInを10 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。

2.4.3 水分測定

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。

2.4.4 元素濃度測定

ICP-MS を用いて内標準法によりLi、Co、Ni、Cu、Rb、Mo、Cd、Cs、La及びTlの10元素の元素濃度を測定した。また、ICP-OES を用いて検量線法によりNa、Mg、P、K、Ca、Mn、Fe、Zn、Sr及びBaの10元素の元素濃度を測定した。

2.5 判別モデルの構築

2.4で得られたデータのうち、国産61点、ニュージーランド産32点及びメキシコ産41点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点選択した各元素の乾燥試料中濃度、乾燥試料中濃度の常用対数、Kに対する濃度比及びKに対する濃度比の常用対数を説明変数として、線形判別分析及びサポートベクターマシン（SVM）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、SVMはe1071パッケージを使用した。

解析は中村ら¹⁰⁾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。できるだけ少ない元素数で高い的中率が得られる判別モデルを最適な判別モデルとして選択した。

3. 結果及び考察

3.1 試料の元素組成

各産地の果肉の乾燥試料中濃度の平均値と標準偏差を表2に示す。

既報⁶⁾の種子のデータと比較すると、Ni、Rb、Cd、Zn及びSrは国産、ニュージーランド産及びメキシコ産の各産地の乾燥試料中濃度の平均値の傾向が似ていた。例えば、Niは既報の種子及び本報の果肉のいずれの乾燥試料中濃度も、ニュージーランド産の平均値が最も大きく、メキシコ産の平均値が最も小さかった。一方で、Cu、P及びCaは既報の種子では各産地の乾燥試料中濃度の平均値がほぼ同じであったが、本報の果肉では同じとは言えない結果であった。

表2 各産地の果肉の乾燥試料中濃度 (mg/kg)

	国産 (n=61)		ニュージーランド産 (n=32)		メキシコ産 (n=41)	
	平均値	標準偏差	平均値	標準偏差	平均値	標準偏差
Li	3.5 ×10 ⁻³	± 7.1 ×10 ⁻³	2.2 ×10 ⁻²	± 2.2 ×10 ⁻²	8.4 ×10 ⁻²	± 6.7 ×10 ⁻²
Co	9.4 ×10 ⁻²	± 9.3 ×10 ⁻²	6.9 ×10 ⁻²	± 7.4 ×10 ⁻²	8.9 ×10 ⁻²	± 6.1 ×10 ⁻²
Ni	1.1	± 1.8	1.9	± 2.6	4.4 ×10 ⁻¹	± 3.0 ×10 ⁻¹
Cu	2.2	± 1.2	3.0	± 1.0	26.7 ×10 ⁻¹	± 8.6 ×10 ⁻¹
Rb	7.4	± 4.1	1.9 ×10	± 1.8 ×10	5.4	± 4.1
Mo	3.5 ×10 ⁻¹	± 3.7 ×10 ⁻¹	4.8 ×10 ⁻¹	± 3.8 ×10 ⁻¹	5.0 ×10 ⁻¹	± 3.2 ×10 ⁻¹
Cd	2.7 ×10 ⁻²	± 2.5 ×10 ⁻²	2.0 ×10 ⁻²	± 1.6 ×10 ⁻²	3.3 ×10 ⁻²	± 2.6 ×10 ⁻²
Cs	1.1 ×10 ⁻²	± 1.7 ×10 ⁻²	4.6 ×10 ⁻²	± 5.8 ×10 ⁻²	1.4 ×10 ⁻²	± 3.0 ×10 ⁻²
La	0.7 ×10 ⁻²	± 1.3 ×10 ⁻²	4.6 ×10 ⁻³	± 8.1 ×10 ⁻³	8.8 ×10 ⁻⁴	± 8.7 ×10 ⁻⁴
Tl	6.0 ×10 ⁻³	± 6.6 ×10 ⁻³	4.4 ×10 ⁻³	± 4.6 ×10 ⁻³	2.6 ×10 ⁻³	± 4.4 ×10 ⁻³
Na	1.0 ×10	± 1.3 ×10	1.8 ×10	± 1.1 ×10	3.9 ×10	± 3.4 ×10
Mg	7.4 ×10 ²	± 1.8 ×10 ²	7.2 ×10 ²	± 1.7 ×10 ²	6.7 ×10 ²	± 1.7 ×10 ²
P	18.2 ×10 ²	± 6.8 ×10 ²	12.7 ×10 ²	± 2.4 ×10 ²	19.6 ×10 ²	± 5.8 ×10 ²
K	18.9 ×10 ³	± 4.1 ×10 ³	19.1 ×10 ³	± 3.3 ×10 ³	19.7 ×10 ³	± 4.0 ×10 ³
Ca	5.4 ×10 ²	± 3.5 ×10 ²	7.3 ×10 ²	± 3.0 ×10 ²	4.8 ×10 ²	± 1.9 ×10 ²
Mn	4.5	± 2.9	3.0	± 1.7	3.7	± 1.3
Fe	13.9	± 3.6	1.6 ×10	± 1.1 ×10	14.5	± 4.0
Zn	13.9	± 5.1	11.3	± 4.3	10.9	± 2.7
Sr	2.2	± 3.3	4.4	± 1.8	6.3	± 3.0
Ba	1.0	± 1.0	1.1	± 1.6	7.4 ×10 ⁻¹	± 3.3 ×10 ⁻¹

	ニュージーランド産 (n=4)		韓国産 (n=4)		トンガ産 (n=3)	
	平均値	標準偏差	平均値	標準偏差	平均値	標準偏差
Li	2.5 ×10 ⁻³	± 2.1 ×10 ⁻³	6.0 ×10 ⁻³	± 4.3 ×10 ⁻³	6.5 ×10 ⁻⁴	± 3.7 ×10 ⁻⁴
Co	14.6 ×10 ⁻²	± 6.1 ×10 ⁻²	8.6 ×10 ⁻²	± 4.3 ×10 ⁻²	11.3 ×10 ⁻²	± 4.7 ×10 ⁻²
Ni	11.4	± 4.6	6.5 ×10 ⁻¹	± 4.2 ×10 ⁻¹	52.1 ×10 ⁻³	± 7.7 ×10 ⁻³
Cu	18.6 ×10 ⁻¹	± 6.3 ×10 ⁻¹	25.9 ×10 ⁻¹	± 8.1 ×10 ⁻¹	22.7 ×10 ⁻¹	± 6.3 ×10 ⁻¹
Rb	2.0	± 1.1	7.2	± 3.5	4.7	± 1.5
Mo	3.3 ×10 ⁻¹	± 1.2 ×10 ⁻¹	7.4 ×10 ⁻¹	± 3.7 ×10 ⁻¹	4.6 ×10 ⁻²	± 3.9 ×10 ⁻²
Cd	6.1 ×10 ⁻³	± 2.6 ×10 ⁻³	8.4 ×10 ⁻³	± 3.0 ×10 ⁻³	2.2 ×10 ⁻²	± 1.3 ×10 ⁻²
Cs	2.4 ×10 ⁻³	± 2.6 ×10 ⁻³	1.9 ×10 ⁻²	± 1.6 ×10 ⁻²	1.4 ×10 ⁻²	± 2.1 ×10 ⁻²
La	7.4 ×10 ⁻⁴	± 3.8 ×10 ⁻⁴	7.0 ×10 ⁻²	± 6.7 ×10 ⁻²	5.9 ×10 ⁻⁴	± 1.1 ×10 ⁻⁴
Tl	3.4 ×10 ⁻⁴	± 1.7 ×10 ⁻⁴	5.5 ×10 ⁻³	± 5.6 ×10 ⁻³	4.6 ×10 ⁻³	± 5.3 ×10 ⁻³
Na	17.1	± 8.6	5.9	± 2.9	4.8 ×10	± 2.3 ×10
Mg	9.8 ×10 ²	± 2.5 ×10 ²	9.4 ×10 ²	± 2.9 ×10 ²	9.7 ×10 ²	± 2.1 ×10 ²
P	15.3 ×10 ²	± 2.4 ×10 ²	25.3 ×10 ²	± 7.4 ×10 ²	12.4 ×10 ²	± 2.4 ×10 ²
K	19.9 ×10 ³	± 3.9 ×10 ³	22.3 ×10 ³	± 2.5 ×10 ³	19.7 ×10 ³	± 3.5 ×10 ³
Ca	3.8 ×10 ²	± 2.7 ×10 ²	8.8 ×10 ²	± 1.9 ×10 ²	9.5 ×10 ²	± 2.3 ×10 ²
Mn	2.7	± 1.1	5.2	± 1.8	39.0 ×10 ⁻¹	± 5.1 ×10 ⁻¹
Fe	9.7	± 1.3	15.5	± 3.0	11.4	± 2.3
Zn	8.6	± 1.8	17.4	± 5.5	9.0	± 2.6
Sr	2.2	± 1.8	7.0	± 6.3	8.7	± 5.0
Ba	9.7 ×10 ⁻¹	± 6.7 ×10 ⁻¹	8.3 ×10 ⁻¹	± 3.8 ×10 ⁻¹	4.9 ×10 ⁻¹	± 3.7 ×10 ⁻¹

3.2 判別モデルの構築

国産 61 点、ニュージーランド産 32 点の計 93 点を解析して、国産-ニュージーランド産判別モデルを構築した。その結果、最適な判別モデルとして、7 元素を説明変数とする判別モデルが得られた (式 1)。

また、国産 61 点、メキシコ産 41 点の計 102 点を解析して、国産-メキシコ産判別モデルを構築

した。その結果、最適な判別モデルとして、6 元素を説明変数とする判別モデルが得られた (式 2)。

$$X = 4395 \times [\text{Ni}/\text{K}] - 778.7 \times [\text{Rb}/\text{K}] - 502.7 \times [\text{Na}/\text{K}] - 1.562 \times \log_{10}[\text{Ni}/\text{K}] - 2.392 \times \log_{10}[\text{Cs}/\text{K}] + 4.427 \times \log_{10}[\text{Tl}/\text{K}] - 3.295 \times \log_{10}[\text{Sr}/\text{K}] - 3.618 \quad (\text{式 1})$$

$$Y = 14621 \times [\text{Ni}/\text{K}] - 2463 \times [\text{Mo}/\text{K}] + 5359 \times [\text{Mn}/\text{K}] - 2.862 \times \log_{10}[\text{Li}/\text{K}] - 1.768 \times \log_{10}[\text{Mg}/\text{K}] - 21.312 \quad (\text{式 2})$$

ここで、[Ni/K]、[Rb/K]、[Na/K]、[Cs/K]、[Tl/K]、[Sr/K]、[Mo/K]、[Mn/K]、[Li/K]及び[Mg/K]はそれぞれの元素の K に対する濃度比を示す。LOOCV により得られた判別得点 X のヒストグラムを図 1 に、LOOCV により得られた判別得点 Y のヒストグラムを図 2 に示す。判別得点 X が正の場合は国産、負の場合はニュージーランド産と判別した。この国産-ニュージーランド産判別モデルでは、判別モデル構築に用いた試料のうち、国産試料の 97 % (59/61)、ニュージーランド産試料の 100 % (32/32) を正しく判別した。また、判別得点 Y が正の場合は国産、負の場合はメキシコ産と判別した。この国産-メキシコ産判別モデルでは、判別モデル構築に用いた試料のうち、国産試料の 100 % (61/61)、メキシコ産試料の 100 % (41/41) を正しく判別した。

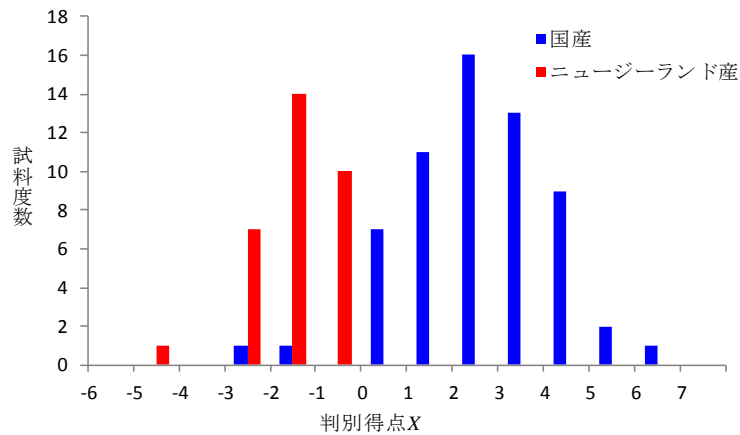


図1 構築した国産-ニュージーランド産判別モデルの LOOCVでの判別得点のヒストグラム

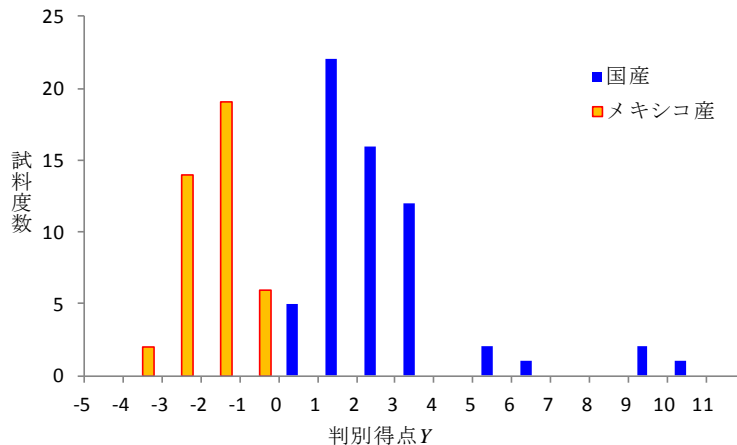


図2 構築した国産-メキシコ産判別モデルの LOOCVでの判別得点のヒストグラム

既報⁶⁾では、国産-ニュージーランド産判別モデルでは、国産の判別モデル構築用試料 49 ロット中 43 ロットを、ニュージーランド産の判別モデル構築用試料 31 ロット中 28 ロットを正しく判別していた。また、国産-メキシコ産判別モデルでは、国産の判別モデル構築用試料 49 ロット中 48 ロットを、メキシコ産の判別モデル構築用試料 33 ロット中 33 ロット全てを正しく判別していた。このため、今回の判別法は、既報より優れた判別能力を有する判別法となった。この要因としては、種子を分析対象部位とする既報では測定していない、又は、検出限界未満の試料が多かった、Li、Cs、Tl、Na などの元素を判別モデルに使用できたことなどが考えられる。

今回、K に対する濃度比を説明変数とする判別モデルが得られたため、乾燥試料中濃度だけでなく、粉碎試料中濃度でも、判別得点の計算が可能となった。このため、判別に試料の水分測定が不要となり、簡便かつ検査時間の短縮に有効な判別モデルとなった。

最後に、収集したすべての試料の判別得点 X と判別得点 Y の散布図を図 3 に示す。

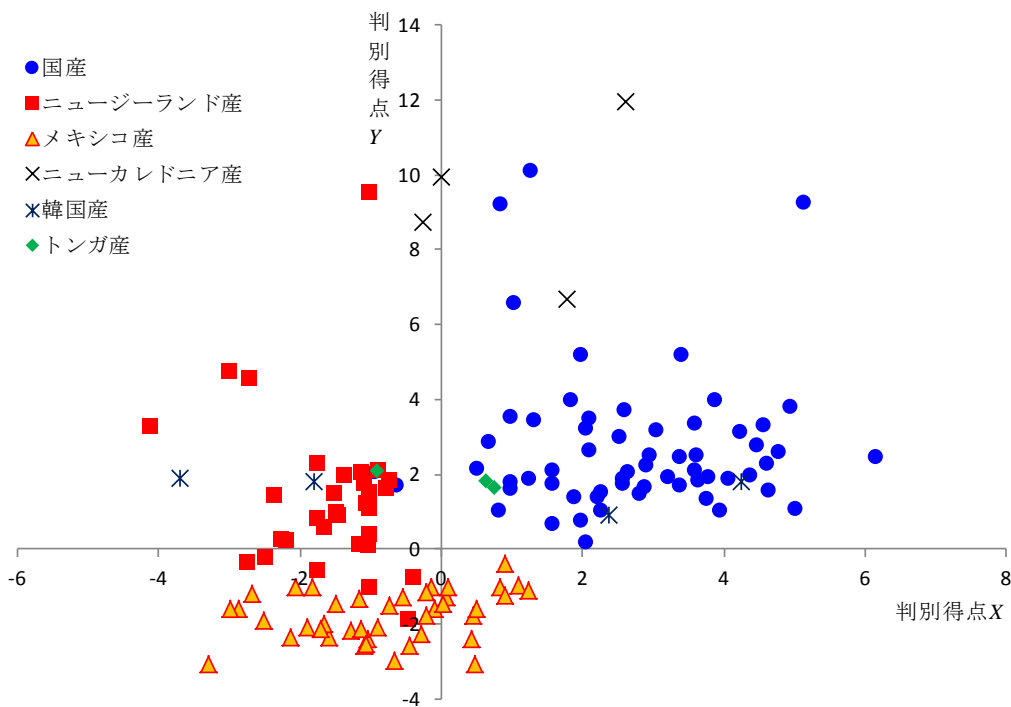


図3 収集した試料の判別得点Xと判別得点Yの散布図

今回構築した判別モデルでは、輸入量の少ないニューカレドニア産（総輸入量の 3.0 %）、韓国産（同 1.7 %）、トンガ産（同 1.6 %）の試料については、いずれの判別モデルでも国産と誤判別される試料が多かった。カボチャは国ごとに輸入時期が比較的ずれているが、これらの産地の流通が多い時期に検査を行う際には、注意する必要があると考えられる。

4. まとめ

本研究では、果肉を分析対象部位とする元素分析によるカボチャの原産地判別法を検討した。その結果、1/4 カット済み品にも対応可能な原産地判別法となった。判別モデル構築用試料の的中率は、国産-ニュージーランド産判別モデルでは国産 97 %、ニュージーランド産 100 %に、国産-メキシコ産判別モデルでは国産 100 %、メキシコ産 100 %になり、既報より判別精度が向上した。

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、ご協力やご助言をいただきました農業協同組合、商社、輸入業者等の皆様に心より御礼申し上げます。

文 献

- 1) 船木紀夫, 服部賢志, 木村康晴, 佐藤耕一, 塚田政範, 津村明宏, 佐野雅敏, 豊田正俊, 小塚健志, 門倉雅史, 法邑雄司, 無機元素分析によるゴボウの原産国判別, 日本食品科学工学会誌, **57**, 70-77(2010)
- 2) 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**, 69-75(2012)
- 3) 時本景亮, 「ストロンチウム同位体比を用いる乾シイタケの原産国判別法」の開発を終えて, 菌茸, **57**, 16-22(2011)
- 4) 渡邊裕之, 法邑雄司, 堀田博: カボチャの無機元素組成による原産地判別の検討, 関税中央分析所報, **47**, 15-23(2007)
- 5) 渡邊裕之, 法邑雄司, 堀田博: 無機元素組成による輸入カボチャの産地判別, 日本食品科学工学会誌, **55**, 637-639(2008)
- 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**, 78-84(2010)
- 7) 農林水産省作物統計
- 8) 財務省貿易統計
- 9) 東京都中央卸売市場年報
- 10) 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)