

食品関係等調査研究報告

第41号
平成29年

Research Report of Food Products

Vol.41
2017



独立行政法人 農林水産消費安全技術センター
Food and Agricultural Materials Inspection Center
(Incorporated Administrative Agency)
Saitama, Japan

はじめに

独立行政法人農林水産消費安全技術センター（FAMIC）は、本年、誕生 10 年目の節目の年を迎えました。平成 19 年 4 月、肥料・飼料、農薬、食品のそれぞれを担っていた 3 つの検査分析機関が、共通する科学的技術を基盤に統合し“農場から食卓まで”の一貫した食の安全と消費者の信頼の確保を担う機関として新たな一步を踏み出しました。

これまでの 10 年の歩みは統合のメリットを打ち出し、それぞれの機関で蓄えてきた知見と経験を合わせ、様々な課題に取り組んできました。10 年を経たこれからは、より質の高い技術力で行政を支える第一線の検査分析機関として更に飛躍するべく努力を続ける所存です。

食品表示については、食品表示法（平成 25 年法律第 70 号）に基づき制定された食品表示基準（平成 27 年内閣府令第 10 号（平成 27 年 4 月 1 日施行））により、食品関連事業者が適切な表示をすることとなっております。FAMIC では、農林水産省の指示の下、食品表示の真正性の確認のため、市販品等を対象に科学的検査を実施し、検査の結果、表示に疑義が認められた場合には、農林水産省に報告するとともに、表示監視行政機関等からの要請による検査・分析についても対応に努めているところです。

平成 29 年 9 月に食品表示基準が一部改正され、これまで一部の加工食品のみに義務付けられていた原料原産地表示について、輸入品以外の全ての加工食品を対象として義務づけられました（経過措置期間：平成 34 年 3 月 31 日まで）。加工食品の原料原産地表示の真正性の確認に対するニーズが高まる中で、食品表示の監視業務を効率的かつ効果的に行うための検査・分析技術が求められています。

このため、FAMIC では、食品表示に関する調査研究分野において、重点化して取り組むべき検査・分析技術を明確化するとともに、研究機関や大学と連携して調査研究に取り組んでおり、その成果を食品表示の監視業務に活用していくこととしています。また、成果の一部は、公開調査研究発表会の開催、関係学会への論文投稿等を通じて公表に努めているところです。

今般、その一環として、平成 28 年度の調査研究の成果を収録した「食品関係等調査研究報告」第 41 号を発行することとなりました。本研究報告が食品表示の適正化の一助となることを期待するとともに、関係各位には、成果の活用や更なる検査・分析手法の改良・開発に向けて、引き続き、ご指導、ご鞭撻をいただきますようお願い申し上げます。

平成 29 年 12 月

独立行政法人 農林水産消費安全技術センター
理事長 木村 真人

目 次

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	1
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 松野 和久, 井伊 悠介, 寺田 昌市, 太田 民久, 申 基澈, 陀安 一郎	8
かき類の元素分析及び軽元素安定同位体比分析による原産地判別法の検討 小岩 智宏, 伊澤 淳修, 後藤 祐之介	15
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 豊田 正俊, 箱田 晃子, 石井 修人, 鈴木 彌生子	22
ナチュラルチーズの脂肪酸組成分析による原料原産地判別法の検討 高嶋 康晴, 齋藤 慎, 上野山 智洋, 山内 奈緒子	31

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°C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°C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。

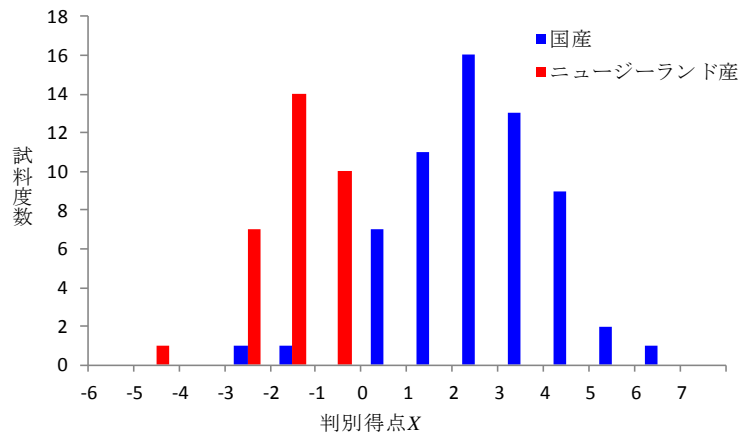


図1 構築した国産-ニュージーランド産判別モデルの LOOCVでの判別得点のヒストグラム

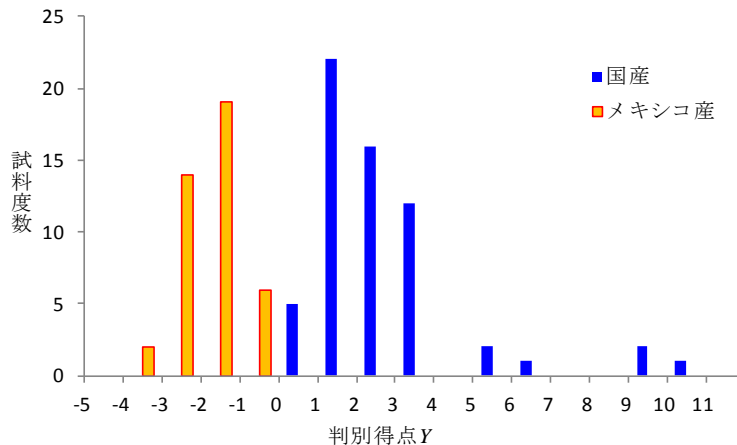


図2 構築した国産-メキシコ産判別モデルの LOOCVでの判別得点のヒストグラム

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。

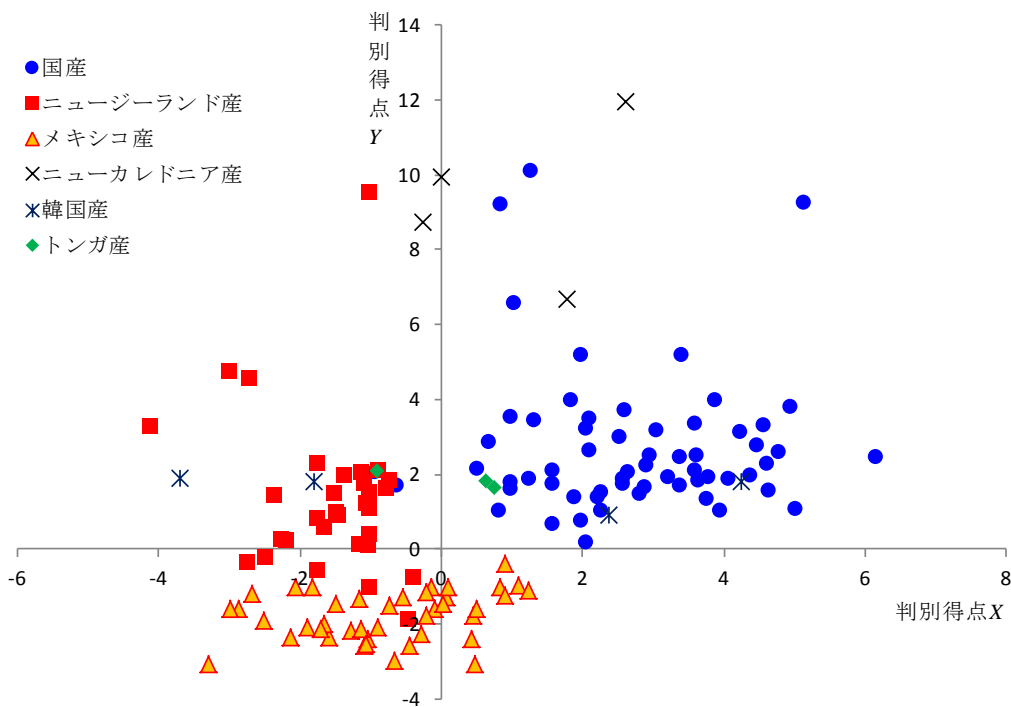


図3 収集した試料の判別得点Xと判別得点Yの散布図

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)

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

松野 和久¹, 井伊 悠介¹, 寺田 昌市², 太田 民久³, 申 基澈³, 陀安 一郎³
Kazuhisa Matsuno, Yusuke Ii, Shoichi Terada, Tamihisa Ohta, Ki-Cheol Shin, Ichiro Tayasu

要 約

国産（日本産）及び外国産（中国産）の生鮮ショウガについて、元素分析及び Sr 安定同位体比分析を利用した原産地判別法を検討した。生鮮ショウガ 98 試料（国産 55 試料、中国産 43 試料）について、12 元素の濃度及び Sr 安定同位体比を測定し、線形判別分析及びサポートベクターマシンによる判別式の構築を試みた。元素分析及び Sr 安定同位体比分析の組み合わせによる判別について確認した結果、収集した国産試料の 96 %、中国産試料の 88 % の原産地を正しく判別した。

また、ショウガの生産については、産地が異なる種ショウガが使われることがあり、種ショウガの産地が生育したショウガの原産地の原産地の判別に影響しないかを確認する必要があることから、元素濃度及び Sr 安定同位体比が異なる国産及び外国産の種ショウガを同一ほ場に作付けし、栽培したところ、新たに生育したショウガの元素濃度及び Sr 安定同位体比はほぼ同じ値となった。このことから、新たに生育したショウガは、種ショウガの元素濃度及び Sr 安定同位体比に依存すること無く、栽培地の元素濃度及び Sr 安定同位体比を反映すると考えられた。

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）において、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。

平成 27 年における生鮮ショウガの輸入量は、国内流通量（国産出荷量＋輸入量）の 34 % を占め、主な輸入先国は、中国（総輸入量の 94 %）、タイ（同 4 %）となっている^{1,2}。輸入ショウガは、国産ショウガに比べて比較的安価であり、原産地の偽装が懸念されることから、原産地表示の真正性を客観的に検証する科学的検査技術の開発が求められている。

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³⁻⁵。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生育した農産物に反映されることを利用したものである。

生鮮ショウガについては、平成 19 年に門倉らによる元素分析による原産地判別法の報告⁶があるが、報告から長期間経過していることから、前処理法を含めた判別モデルの再検討及び判別精度の向上が必要とされていた。このことから本研究では、元素分析のほか、Sr 安定同位体比分析についても検討を行った。

また、ショウガの生産については、産地が異なる種ショウガが使われることがあり、種ショウ

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

ガの産地が生育したショウガの原産地の判別に影響しないかを確認する必要があることから、元素濃度及び Sr 安定同位体比が異なる種ショウガを同一ほ場に作付けし、栽培試験を実施したので報告する。

2. 実験方法

2.1 試料

試料は、生鮮ショウガ（新ショウガ、葉ショウガを除く）を対象として平成 26 年 4 月から平成 28 年 12 月にかけて 98 試料（国産 55 試料、中国産 43 試料）を入手した。国産は出荷量の多い 9 県の生産者などから入手し^(注)、中国産は流通事業者などから市販向け商品を購入した。収集試料の内訳を表 1 に示した。

また、栽培試験用には国産 3 試料、外国産 3 試料の種ショウガを購入した。

表 1 収集試料

産地	試料数
高知県	25
熊本県	7
宮崎県	6
千葉県	4
鹿児島県	4
岡山県	3
長崎県	3
大分県	2
徳島県	1
中国	43

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）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。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（Eichrom Technologies）を用いた。検量線用混合標準溶液には単元素標準溶液（Mg、Ba、Mn、Li、Co、Cu、Zn、Rb、Sr、Mo、Cd、Ce 及び In、ICP 分析用）を適宜希釈して調製した。

2.3 装置

元素濃度の測定には、誘導結合プラズマ発光分光分析装置（ICP-OES）（725-ES、Varian（現 Agilent Technologies））及び誘導結合プラズマ質量分析装置（ICP-MS）（820 MS、Varian（現 Agilent Technologies））を用いた。Sr 安定同位体比の測定には、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に設置されてい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装置（マルチコレクター ICP-MS）（Neptune plus、Thermo Fisher Scientific）を用いた。

2.4 試料調製

収集試料について、セラミック製包丁を用いて皮を剥き、切断痕、食害痕を除去後、2 ～3 mm 角程度に細切し混和したものを細切試料とした。

2.5 酸分解

細切試料 6 g を採取した樹脂製ヒータブルビーカーに 61 %硝酸を 10 mL 加え、樹脂製時計皿でふたをし、120 °C 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 2.5 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

(注) 国産試料の収集は農林水産消費安全技術センター吉富耕司、松岡高広、荒尾祐子が担当した。

加熱して乾固した。ビーカー内の残留物に1%硝酸を5～10 mL程度加え、ホットプレート上で加熱・溶解し、内標準のInが5 µg/Lになるように加え、1%硝酸で50 mLに定容し、元素濃度測定用試料溶液とした。試料は3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。次に元素測定用試料溶液（Srが400 ng含まれる量）を200 °C程度で蒸発乾固し、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

Mg、Mn、Sr及びBaの濃度は検量線法でICP-OESにより、Li、Co、Cu、Zn、Rb、Mo、Cd及びCeの濃度は内標準法（内標準：In）でICP-MSにより、それぞれ表2の条件で測定した。

Sr安定同位体比はマルチコレクターICP-MSにより表3の条件で測定した。

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 L/min
補助ガスフロー	1.5 L/min	1.5 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	0.08 rps	15 rpm

表3 マルチコレクター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 L/min
ネブライザー(吸入量)	PFA(100 µL/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	40

2.8 判別モデルの構築

測定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、Mgに対する濃度比、Mg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、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。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。

2.9 栽培試験

国産3試料、外国産3試料の種ショウガについて1個体を分析用と栽培試験用に分割して行った。試験ほ場（兵庫県神戸市西区）に栽培試験用種ショウガを作付け、約5ヶ月間（5月下旬～11月上旬）栽培した後、新たに生育したショウガの元素分析及びSr安定同位体比分析を行った。

3. 結果

3.1 元素分析の結果

国産試料 ($n=55$) と中国産試料 ($n=43$) に含まれる各元素の乾燥重量あたりの濃度を表 4 に示した。12 元素の測定結果について t 検定を行ったところ、Ba、Ce を除く 10 元素について国産試料と中国産試料間に有意差がみられた ($p<0.05$)。

表 4 収集したショウガ試料の乾燥重量あたりの元素濃度

	国産(mg/kg)											
	Mg	Ba	Mn	Li	Co	Cu	Zn	Rb	Sr	Mo	Cd	Ce
平均	29×10^2	18	45×10	28×10^{-3}	54×10^{-3}	56×10^1	33	12	85×10^{-1}	84×10^{-2}	27×10^{-2}	26×10^{-3}
標準偏差	11×10^2	23	47×10	35×10^{-3}	52×10^{-3}	20×10^1	23	91×10^{-1}	60×10^{-1}	79×10^{-2}	33×10^{-2}	51×10^{-3}
最小値	13×10^2	59×10^{-2}	22	19×10^{-4}	77×10^{-4}	15×10^1	70×10^{-1}	75×10^{-2}	30×10^{-1}	26×10^{-2}	89×10^{-4}	19×10^{-4}
第1四分位値	21×10^2	38×10^{-1}	11×10	10×10^{-3}	18×10^{-3}	45×10^1	16	54×10^{-1}	51×10^{-1}	44×10^{-2}	33×10^{-3}	92×10^{-4}
中央値	25×10^2	11	32×10	19×10^{-3}	31×10^{-3}	54×10^1	24	94×10^{-1}	63×10^{-1}	66×10^{-2}	10×10^{-2}	14×10^{-3}
第3四分位値	33×10^2	25	65×10	30×10^{-3}	77×10^{-3}	64×10^1	45	16	95×10^{-1}	10×10^{-2}	47×10^{-2}	25×10^{-3}
最大値	66×10^2	13×10	21×10^2	23×10^{-2}	22×10^{-2}	12	89	50	40	46×10^{-1}	13×10^{-1}	36×10^{-2}

	中国産(mg/kg)											
	Mg	Ba	Mn	Li	Co	Cu	Zn	Rb	Sr	Mo	Cd	Ce
平均	36×10^2	12	83×10	12×10^{-2}	11×10^{-2}	67×10^1	22	23×10^{-1}	11	36×10^{-2}	10×10^{-2}	22×10^{-3}
標準偏差	11×10^2	99×10^{-1}	59×10	91×10^{-3}	85×10^{-3}	21×10^1	11	16×10^{-1}	43×10^{-1}	31×10^{-2}	12×10^{-2}	25×10^{-3}
最小値	17×10^2	60×10^{-2}	82	14×10^{-3}	25×10^{-3}	39×10^1	65×10^{-1}	59×10^{-2}	39×10^{-1}	93×10^{-4}	83×10^{-4}	19×10^{-4}
第1四分位値	28×10^2	57×10^{-1}	32×10	61×10^{-3}	50×10^{-3}	56×10^1	16	11×10^{-1}	74×10^{-1}	12×10^{-2}	25×10^{-3}	62×10^{-4}
中央値	35×10^2	10	66×10	96×10^{-3}	85×10^{-3}	64×10^1	21	19×10^{-1}	89×10^{-1}	35×10^{-2}	48×10^{-3}	15×10^{-3}
第3四分位値	42×10^2	16	14×10^2	13×10^{-2}	15×10^{-2}	76×10^1	25	28×10^{-1}	13	47×10^{-2}	13×10^{-2}	30×10^{-3}
最大値	59×10^2	44	20×10^2	43×10^{-2}	35×10^{-2}	14	55	61×10^{-1}	21	17×10^{-1}	61×10^{-1}	12×10^{-2}

3.2 Sr 安定同位体比分析の結果

収集試料の Sr 安定同位体比の測定結果を表 5 に示した。平均値±標準偏差は、国産試料 ($n=55$) は 0.708 ± 0.001 、中国産試料 ($n=43$) は 0.711 ± 0.002 となり、国産試料と中国産試料間に t 検定で有意差がみられた ($p<0.05$)。

表 5 収集したショウガ試料中の Sr 安定同位体比

	国産	中国産
平均	0.708	0.711
標準偏差	0.001	0.002
最小値	0.706	0.708
第1四分位数	0.708	0.710
中央値	0.709	0.711
第3四分位数	0.709	0.712
最大値	0.710	0.717

3.3 判別の検討

3.3.1 元素分析による判別の検討

測定した元素のうち Li、Zn、Sr、Cd、Ce の 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 (式 1)。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。

$$x = -3.26 \times \log[\text{Li/Mg}] + 2.327 \times \log[\text{Zn/Mg}] - 1.124 \times \log[\text{Sr/Mg}] + 0.635 \times \log[\text{Cd/Mg}] + 1.358 \times \log[\text{Ce/Mg}] - 3.459 \quad \dots \text{ (式 1)}$$

ここで、[Li/Mg]、[Zn/Mg]、[Sr/Mg]、[Cd/Mg]、[Ce/Mg]は、それぞれの元素の Mg に対する濃度比を示す。

収集試料の判別得点のヒストグラム及び確率密度を図 1 に示した。判別得点 0 を基準とした場合、国産試料の 91 % (50/55)、外国産として中国産試料の 79 % (34/43) を正しく判別する結果が得られた。

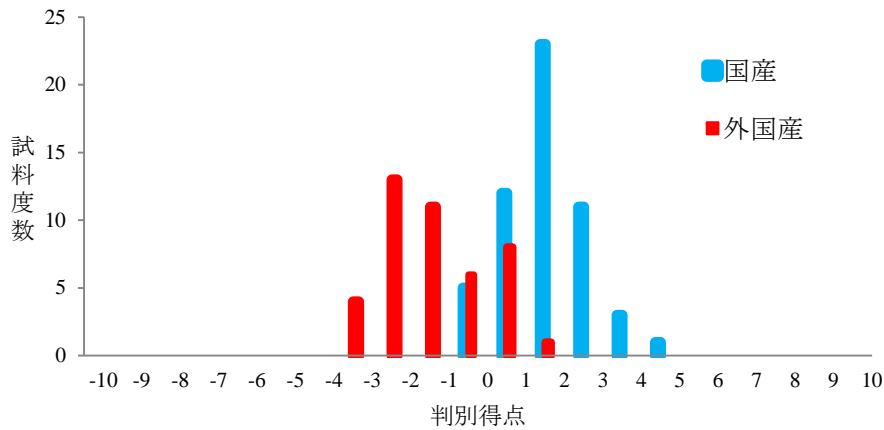


図 1 国産と外国産ショウガの元素濃度による判別得点の分布

3.3.2 Sr 安定同位体比分析による判別の検討

Sr 安定同位体比の分布を図 2 に示した。 $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr} : 0.710$ を基準値とした場合、国産試料の全て (55/55)、外国産として中国産試料の 84 % (36/43) を正しく判別する結果が得られた。

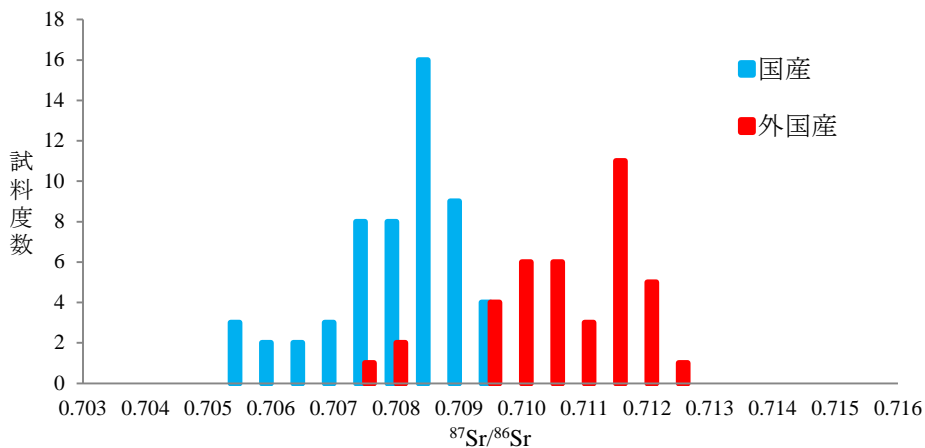


図 2 国産と外国産ショウガの Sr 安定同位体比の分布

3.3.3 組み合わせによる検討

元素分析の結果をもとに線形判別分析により求めた判別得点 x と Sr 安定同位体比 ($^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$) を変数として、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 (式 2)。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。

$$y = 0.726 \times x - 587.067 \times \frac{^{87}\text{Sr}}{^{86}\text{Sr}} + 416.503 \quad \dots \text{(式 2)}$$

この判別式により判別得点 y を求め、判別得点のヒストグラムを図 3 に示した。判別得点 0 を基準とした場合、国産試料の 96 % (53/55)、外国産として中国産試料の 88 % (38/43) を正しく判別した。

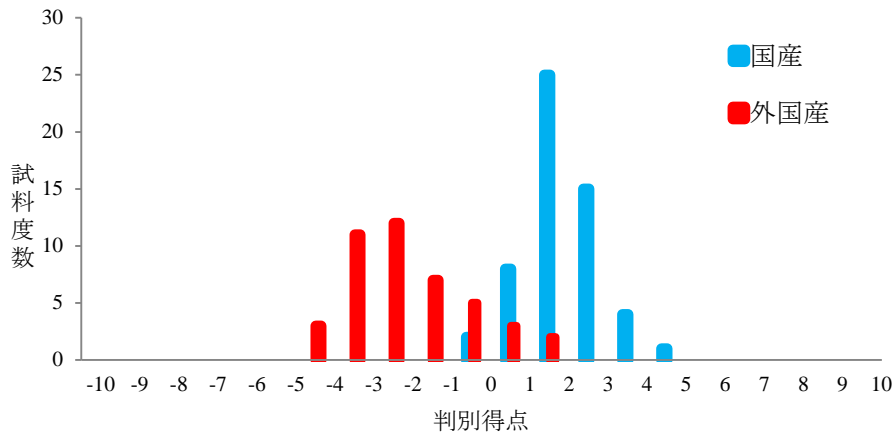


図 3 元素濃度及び Sr 安定同位体比の組み合わせによる判別結果

3.4 栽培試験結果

種ショウガの測定値は、元素濃度と Sr 安定同位体比のいずれも試料間の差が大きかったが、これらを同一ほ場で生育したショウガの測定値はすべての試料で近い値となった (図 4)。

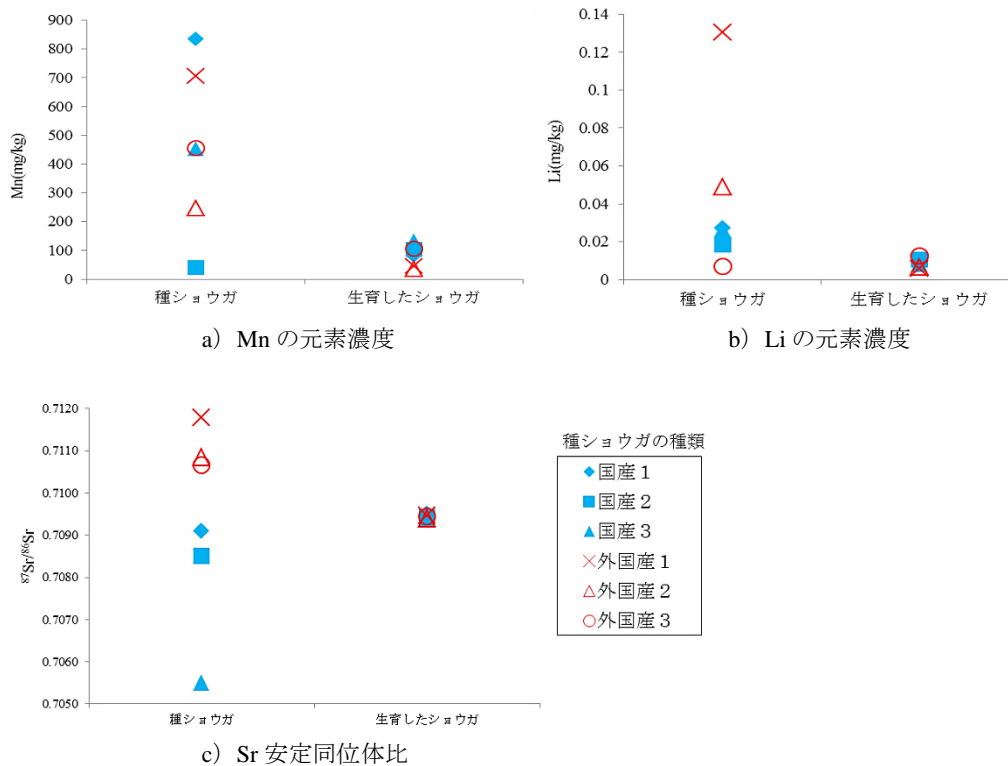


図 4 種ショウガと生育したショウガの元素濃度及び Sr 安定同位体比

4. 考察

生鮮ショウガの元素分析及び Sr 安定同位体比による原産地判別法を検討した。その結果、判別基準の設定方法によっては、元素分析又は Sr 安定同位体比分析単独での判別より、組み合わせて判別するほうが判別精度が向上する可能性があると考えられた。

また、栽培試験の結果から、ショウガの元素濃度及び Sr 安定同位体比に対する種ショウガの影響は軽微であると考えられた。このことから、種ショウガの産地の違いが、元素濃度及び Sr 安定同位体比を利用したショウガの産地判別の判別精度に影響を与える可能性は低いと考えられた。

5. まとめ

本研究では、元素分析及び Sr 安定同位体比分析によるショウガの産地判別法を検討した。国産 55 試料、外国産として中国産 43 試料を収集、分析した。その結果、元素分析及び Sr 安定同位体比分析を組み合わせることにより国産試料の 96 %、外国産試料の 88 % を正しく判別できる判別モデルが構築できた。

また、生育したショウガにおける種ショウガの元素濃度及び Sr 安定同位体比の影響についても、同一ほ場における栽培試験を行った結果、種ショウガの元素濃度及び Sr 安定同位体比の影響を受けることなく、生育したショウガの元素濃度及び Sr 安定同位体比はほぼ同じ値となる傾向があった。

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、試料の提供にご協力いただきました生産者、農業協同組合、卸売業者等の皆様に心より御礼申し上げます。

文 献

- 1) 財務省貿易統計
- 2) 農林水産省作物統計
- 3) 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**(2), 70-77(2010)
- 4) 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**(2), 78-84(2010)
- 5) 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)
- 6) 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調査研究報告, **31**, 8-15(2007)

かき類の元素分析及び軽元素安定同位体比分析による 原産地判別法の検討

小岩 智宏, 伊澤 淳修, 後藤 祐之介

Tomohiro Koiwa, Atsunobu Izawa, Yunosuke Gotou

要 約

国産（日本産）及び外国産（韓国産、中国産）のかき類（イワガキを除く）について、元素分析及び軽元素（炭素及び窒素）安定同位体比分析による原産地判別法を検討した。

218 試料（国産 128 試料、韓国産 74 試料、中国産 16 試料）を収集し、貝柱、胃、えら及び外套膜の 4 部位について、乾燥・粉碎し、23 元素（Li、Al、Ti、Cr、Mn、Co、Ni、Cu、Zn、Rb、Sr、Y、Mo、Ag、Cd、Ba、Pb、P、Na、Mg、Ca、K 及び Fe）の濃度測定、炭素及び窒素安定同位体比の測定を行い、得られたデータの統計解析を実施した。

元素分析については、サポートベクターマシンによりえらの 8 元素（Cu、Zn、Y、Mo、Cd、Ba、Pb 及び Fe）を変数とする判別モデルを構築した結果、国産試料の 96 %、外国産試料の 93 % を正しく判別した。炭素及び窒素安定同位体比分析については、国産試料と外国産試料の分布が大きく重なっており判別が困難であった。

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。

かき類（殻付き）の平成 27 年の養殖国内収穫量は約 16.4 万トンである¹⁾。主要な産地は広島県、岡山県、宮城県、兵庫県であり、瀬戸内海域での生産が約 8 割を占める。平成 28 年の輸入量は生鮮品、冷蔵品及び冷凍品で約 2.2 万トン（むき身換算率 0.15 として算出）であり、その 91 % を韓国産が占める²⁾。過去には韓国産カキを宮城県産に混入する等の事案が起きており、産地偽装が懸念されることから、原産地表示の真正性を確認するための科学的検証方法が必要とされている。

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おり^{3) - 6)}、水産物の原産地判別についても報告がある⁷⁾。これらの方法は、生育環境の違いが生産物に反映されることを利用したものである。窒素安定同位体比分析では、海域における閉鎖性等の違いにより異なる値を示す傾向があり、FAMIC においても、窒素安定同位体比分析を利用した鳴門産とその他の産地の乾わかめの原産地判別法の検討を行い、成果を得ている⁸⁾。

そこで元素分析及び軽元素安定同位体比分析を用いてかき類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27年4月から平成29年2月にかけて218試料（国産128試料（生カキ105試料、冷凍カキ15試料、冷凍かきフライ（食用油脂で揚げたものを除く。以下同じ。）8試料）、韓国産74試料（生カキ18試料、冷凍カキ19試料、冷凍かきフライ37試料）、中国産16試料（冷凍かきフライ16試料））を入手した。イワガキについては収集対象外とした。国産試料は漁協などを通じて入手し、外国産試料は流通事業者などから市販向け商品を購入した。

表1 収集試料

産地	試料数
広島県	44
宮城県	32
岡山県	22
兵庫県	19
岩手県	3
三重県	3
北海道	2
福岡県	3
韓国	74
中国	16

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 $>18\text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$ 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。検量線用混合標準溶液には単元素標準溶液（Li、Al、Ti、Cr、Mn、Co、Ni、Cu、Zn、Rb、Sr、Y、Mo、Ag、Cd、Ba、Pb、P、Na、Mg、Ca、K、Fe及びIn、ICP分析用）を適宜希釈して調製した。

2.3 装置

試料調製には、真空凍結乾燥器（DRZ350WA、ADVANTEC）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。炭素及び窒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）（Iso Prime EA、GV Instruments（現Elementar））を用いた。

2.4 試料調製

冷凍かきフライについては流水で衣を除去し、かきを取り出した。セラミック製カッターを用いて、貝柱、胃、えら及び外套膜を採取した。部位毎に超純水で洗浄後、凍結乾燥を行い、ポリエチレン製袋に入れ樹脂製ハンマーで粉砕したものを粉砕試料とした。

2.5 元素分析

粉砕試料約25mg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℃で加熱して乾固した。ビーカーに1%硝酸を5mL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、25mL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5 $\mu\text{g/L}$ 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3点併行で分析した。

Li、Al、Ti、Cr、Mn、Co、Ni、Cu、Zn、Rb、Sr、Y、Mo、Ag、Cd、Ba、Pb及びFeの濃度は

内標準法（内標準：In）で ICP-MS により、P、Na、Mg、Ca 及び K の濃度は検量線法で ICP-OES により、表 2 の条件で測定した。

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

2.6 炭素及び窒素安定同位体比分析

粉碎試料約 0.95 mg をスズ製カプセルに採取し包み込んだ後、EA/IRMS により、表 3 の条件で測定した。試料は 2 点併行で分析した。

表 3 EA/IRMS の測定条件

燃焼管温度	1030 °C
還元管温度	670 °C
GCカラム温度	115 °C

2.7 分析部位の検討

まず約半数の試料について、貝柱、胃、えら及び外套膜の元素濃度、炭素及び窒素安定同位体比を測定し、得られたデータなどをもとに分析に適した部位についての検討を行った。残りの試料の測定及び判別法の検討については、ここで決定した分析部位を対象に実施した。

2.8 判別モデルの構築

国産については各産地の収穫量¹⁾を反映するように選択した 79 試料、外国産については全試料を判別モデルの構築に用いた。また、国産の残り 49 試料は国産ブラインド試料として、構築した判別モデルの判別性能の確認に用いた。

測定した元素濃度、炭素及び窒素安定同位体比を説明変数として、線形判別分析及びサポートベクターマシン（SVM）により最適な判別モデルの構築を検討した。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 を使用した。解析は中村ら⁹⁾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判別率は、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判別率が得られる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 分析部位の検討

3.1.1 元素分析

貝柱については、判別率及び併行精度が他部位より劣っており、また金属製のかき剥きナイフによる汚染が懸念された。胃については、周辺組織と癒着しており、胃のみを採取するのに時間を要し、周辺組織除去の再現性にも難があった。残る外套膜とえらについては判別率が同程度で

あったため、組織の一番外側に位置することから汚染が懸念される外套膜ではなく、えらを分析部位とした。

3.1.2 炭素及び窒素安定同位体比分析

4 部位とも炭素及び窒素安定同位体比の分布が同様の傾向を示したことから、分析の効率を考慮し、元素分析と同じくえらを分析部位とした。

3.2 判別法の検討

3.2.1 元素濃度の測定結果

国産試料と外国産試料の粉砕試料中元素濃度を表 4 に示す。

表 4 粉砕試料中の元素濃度(mg/kg)

	国産											
	Li	Al	Ti	Cr	Mn	Co	Ni	Cu	Zn	Rb	Sr	Y
平均	3.7×10^{-1}	6.4×10	2.2×10	1.1	10.3×10	1.5×10^{-1}	6.8×10^{-1}	1.8×10^2	1.6×10^3	2.6	9.7	3.2×10^{-1}
標準偏差	3.4×10^{-1}	12.6×10	1.3×10	0.0	6.4×10	0.5×10^{-1}	4.0×10^{-1}	1.2×10^2	0.7×10^3	1.0	3.2	4.0×10^{-1}
最小値	0.8×10^{-1}	1.9×10	0.8×10	1.1	2.7×10	0.8×10^{-1}	3.1×10^{-1}	0.06×10^2	0.2×10^3	0.6	4.4	0.3×10^{-1}
第1四分位数	2.0×10^{-1}	1.9×10	1.3×10	1.1	6.1×10	1.2×10^{-1}	3.8×10^{-1}	1.0×10^2	1.1×10^3	1.9	7.5	1.1×10^{-1}
中央値	2.9×10^{-1}	1.9×10	1.6×10	1.1	9.1×10	1.5×10^{-1}	5.8×10^{-1}	1.5×10^2	1.4×10^3	2.5	9.1	2.1×10^{-1}
第3四分位数	3.9×10^{-1}	4.1×10	3.1×10	1.1	12.3×10	1.8×10^{-1}	8.1×10^{-1}	2.1×10^2	2.0×10^3	3.4	11.6	3.2×10^{-1}
最大値	25.3×10^{-1}	89×10	5.4×10	1.4	40.9×10	3.5×10^{-1}	24.3×10^{-1}	7.5×10^2	3.7×10^3	4.6	20.8	28.4×10^{-1}

	国産										
	Mo	Ag	Cd	Ba	Pb	P	Na	Mg	Ca	K	Fe
平均	3.7×10^{-1}	4.6	3.0	3.6×10^{-1}	8.0×10^{-1}	8.4×10^3	8.6×10^3	1.8×10^3	0.9×10^3	6.5×10^3	1.9×10^2
標準偏差	3.3×10^{-1}	3.3	1.5	3.6×10^{-1}	4.2×10^{-1}	0.7×10^3	4.1×10^3	0.5×10^3	0.2×10^3	2.6×10^3	1.1×10^2
最小値	2.1×10^{-1}	0.1	1.2	1.0×10^{-1}	1.2×10^{-1}	5.0×10^3	2.2×10^3	0.8×10^3	0.5×10^3	1.1×10^3	0.9×10^2
第1四分位数	2.1×10^{-1}	2.5	2.0	1.3×10^{-1}	4.9×10^{-1}	8.0×10^3	5.6×10^3	1.4×10^3	0.7×10^3	4.3×10^3	1.3×10^2
中央値	2.4×10^{-1}	3.7	2.5	2.2×10^{-1}	7.6×10^{-1}	8.4×10^3	8.1×10^3	1.6×10^3	0.8×10^3	6.7×10^3	1.5×10^2
第3四分位数	3.6×10^{-1}	5.5	3.4	4.7×10^{-1}	10.8×10^{-1}	9.0×10^3	10.8×10^3	2.1×10^3	1.0×10^3	8.3×10^3	2.2×10^2
最大値	21.6×10^{-1}	19.0	9.0	21.9×10^{-1}	19.2×10^{-1}	9.8×10^3	21.5×10^3	3.6×10^3	1.8×10^3	12.0×10^3	8.3×10^2

	外国産											
	Li	Al	Ti	Cr	Mn	Co	Ni	Cu	Zn	Rb	Sr	Y
平均	3.3×10^{-1}	9.3×10	2.0×10	1.2	5.9×10	1.6×10^{-1}	7.7×10^{-1}	3.0×10^2	1.2×10^3	1.6	10.9	2.3×10^{-1}
標準偏差	4.2×10^{-1}	12.3×10	1.0×10	0.3	3.3×10	0.6×10^{-1}	5.8×10^{-1}	2.3×10^2	0.6×10^3	0.8	5.7	2.3×10^{-1}
最小値	0.8×10^{-1}	1.9×10	0.9×10	1.1	1.1×10	0.9×10^{-1}	3.1×10^{-1}	0.8×10^2	0.4×10^3	0.3	4.4	0.5×10^{-1}
第1四分位数	1.7×10^{-1}	2.6×10	1.5×10	1.1	3.6×10	1.1×10^{-1}	3.1×10^{-1}	1.3×10^2	0.8×10^3	1.0	7.4	1.1×10^{-1}
中央値	2.1×10^{-1}	4.4×10	1.7×10	1.1	5.4×10	1.4×10^{-1}	5.3×10^{-1}	2.1×10^2	1.0×10^3	1.4	9.4	1.6×10^{-1}
第3四分位数	3.4×10^{-1}	9.9×10	2.0×10	1.1	7.1×10	1.8×10^{-1}	10.2×10^{-1}	4.0×10^2	1.4×10^3	2.1	12.9	2.7×10^{-1}
最大値	37.4×10^{-1}	71.8×10	6.9×10	2.8	18.8×10	4.1×10^{-1}	28.7×10^{-1}	13.5×10^2	3.6×10^3	4.0	32.8	15.2×10^{-1}

	外国産										
	Mo	Ag	Cd	Ba	Pb	P	Na	Mg	Ca	K	Fe
平均	3.0×10^{-1}	6.9	7.4	10.7×10^{-1}	9.7×10^{-1}	8.4×10^3	5.1×10^3	1.4×10^3	1.3×10^3	3.2×10^3	2.3×10^2
標準偏差	1.4×10^{-1}	3.7	4.3	8.1×10^{-1}	3.4×10^{-1}	1.1×10^3	2.4×10^3	0.4×10^3	0.8×10^3	1.9×10^3	1.3×10^2
最小値	2.1×10^{-1}	1.1	1.9	1.2×10^{-1}	1.8×10^{-1}	6.0×10^3	0.9×10^3	0.8×10^3	0.6×10^3	0.3×10^3	0.4×10^2
第1四分位数	2.1×10^{-1}	4.3	4.7	4.2×10^{-1}	7.0×10^{-1}	7.7×10^3	3.2×10^3	1.2×10^3	0.8×10^3	1.7×10^3	1.5×10^2
中央値	2.5×10^{-1}	5.8	6.1	7.8×10^{-1}	9.9×10^{-1}	8.4×10^3	4.5×10^3	1.4×10^3	1.1×10^3	2.8×10^3	2.0×10^2
第3四分位数	3.2×10^{-1}	9.1	8.1	15.9×10^{-1}	11.8×10^{-1}	9.0×10^3	6.8×10^3	1.6×10^3	1.5×10^3	4.2×10^3	2.6×10^2
最大値	12.6×10^{-1}	18.8	21.3	35.4×10^{-1}	21.2×10^{-1}	12.4×10^3	10.1×10^3	2.4×10^3	5.3×10^3	8.9×10^3	7.7×10^2

各元素とも、検出限界未満の測定値については検出限界値にして取り扱った。

3.2.2 炭素及び窒素安定同位体比の測定結果

国産試料と外国産試料の炭素及び窒素安定同位体比を表5に示す。

表5 炭素及び窒素安定同位体比(‰)

	炭素安定同位体比		窒素安定同位体比	
	国産	外国産	国産	外国産
平均	-19.441	-19.010	11.290	10.375
標準偏差	0.738	1.240	1.672	1.090
最小値	-21.509	-22.905	7.043	7.989
第1四分位数	-19.906	-19.547	9.999	9.640
中央値	-19.271	-19.114	11.796	10.128
第3四分位数	-18.938	-18.252	12.609	10.963
最大値	-18.261	-15.384	14.057	13.363

3.3 判別法の検討

3.3.1 元素分析による判別の検討

測定結果を使って最適な判別モデルの検討を行い、Cu、Zn、Y、Mo、Cd、Ba、Pb及びFeの濃度の常用対数を説明変数とする判別モデルを構築した。次に、LOOCVにより得られた判別得点について、Bartlett検定及び一元配置分散分析により生カキ、冷凍カキ、冷凍かきフライの3群間の差を検定した。その結果、国産試料については群間差が確認されず、外国産試料については群間差が確認されたため、国産試料は3群をまとめて、外国産試料は3群を個別に分布を作成することとした。判別得点のヒストグラムを図1(a)～(c)に示す。

判別得点が正の試料を国産、負の試料を外国産と判別した場合、国産試料の96%、外国産試料の93%を正しく判別した。また、国産ブラインド試料についても98%を正しく判別した。判別モデルの的中率を表6に示す。

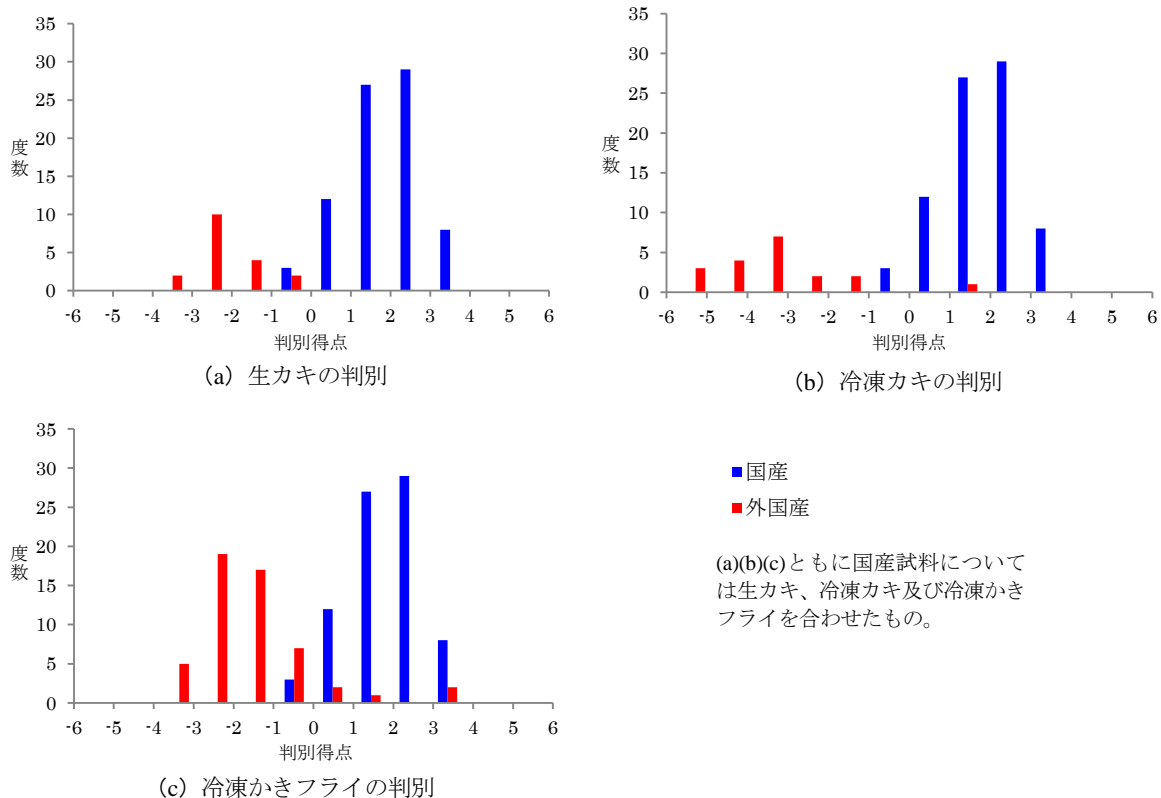


図1 LOOCVの判別得点のヒストグラム

表 6 LOOCV により構築した判別モデルの的中率

	全体	種類別		
		生カキ	冷凍カキ	冷凍かきフライ
国産	96 % (76/79)			
外国産	93 % (84/90)	100 % (18/18)	95 % (18/19)	91 % (48/53)
国産ブラインド試料	98 % (48/49)			

国産は3群をまとめて取り扱うため、種類別の的中率は記載せず。

3.3.2 炭素及び窒素安定同位体比分析による判別の検討

国産試料と外国産試料の炭素及び窒素安定同位体比の分布を図2に示す。炭素、窒素ともに国産試料と外国産試料の重なりが大きく、判別は困難であった。なお、国産試料については瀬戸内海とそれ以外の海域で窒素安定同位体比が分かれる傾向が確認された。

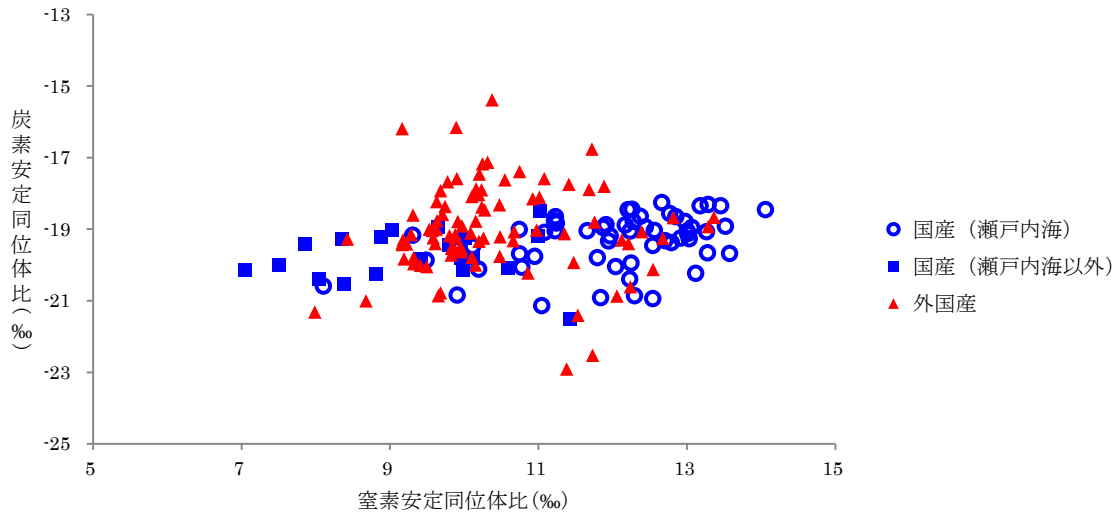


図2 炭素及び窒素安定同位体比の分布

4. まとめ

本研究では、元素分析及び軽元素（炭素及び窒素）安定同位体比分析によるかき類（イワガキを除く）の原産地判別法を検討した。国産 128 試料、韓国産 74 試料、中国産 16 試料を収集し、分析した。その結果、これらの元素分析により国産試料の 96 %、外国産試料の 93 % を正しく判別できる判別モデルが構築できた。炭素及び窒素安定同位体比分析については、国産試料と外国産試料の分布が大きく重なっており判別が困難であった。

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、試料の提供にご協力いただきました生産者、漁業協同組合、卸売業者、製造業者等の皆様に心より御礼申し上げます。

文 献

- 1) 農林水産省漁業・養殖業生産統計
- 2) 財務省貿易統計
- 3) Kaoru Ariyama, Yoshinori Aoyama, Akashi Mochizuki, Yuji Homura, Masashi Kadokura, and Akemi Yasui : Determination of the Geographic Origin of Onions between Three Main Production Areas in Japan and Other Countries by Mineral Composition, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **55**(2), 347-354(2007)
- 4) 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**(2), 78-84 (2010)
- 5) 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)
- 6) 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)
- 7) 諸橋保, 青山恵介, 浪越充司, 木村康晴, 服部賢志 : 元素分析による湯通し塩蔵わかめの原料原産地判別, 日本水産学会誌, **77**(2), 243-245(2011)
- 8) Hisaaki Hiraoka, Sakie Morita, Yunosuke Gotou, Satoshi Hattori, Testuo Ishikawa, Keiichi Okano: Confirming the authenticity of the geographical origin of Naruto dried wakame *Undaria pinnatifida* using stable nitrogen isotope ratios, *Fisheries Science*, **80**(3), 635-642(2014)
- 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調査研究報告, **37**, 1-10(2013)

はちみつ स्ट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

豊田 正俊¹, 箱田 晃子¹, 石井 修人¹, 鈴木 彌生子²
Masatoshi Toyoda, Akiko Hakoda, Shuto Ishii, Yaeko Suzuki

要 約

国産（日本産）はちみつ及び外国産はちみつについて、ストロンチウム（Sr）安定同位体比を利用した原料原産地判別法を検討した。国産はちみつ試料と、外国産（中国産、アルゼンチン産、カナダ産、ミャンマー産、ハンガリー産及びニュージーランド産）はちみつ試料の Sr 安定同位体比を比較した。その結果、国産はちみつと外国産はちみつの Sr 安定同位体比の分布の重なりが大きく、Sr 安定同位体比で国産と外国産を判別することは困難であると考えられた。

一方、アカシアはちみつの元素分析判別モデルについては、ハンガリー産試料等の分析データを追加して再構築を行った。その結果、判別モデル構築に使用した国産 107 試料中 104 試料、中国産 70 試料全て、ハンガリー産 18 試料全ての原料原産地を正しく判別した。このことから、元素分析によるアカシアはちみつの原料原産地判別をハンガリー産にも適用できる可能性があると考えられた。また、アカシアはちみつの元素分析と Sr 安定同位体比分析を組み合わせることで、元素分析単独による原料原産地判別法と比較して判別精度がより高くなる可能性が示唆された。

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いる。平成 29 年 9 月 1 日には同基準の一部を改正する内閣府令（平成 29 年内閣府令第 43 号）が施行され、それまで一部の加工食品にのみ義務付けられていた原料原産地名の表示が、輸入食品以外の全ての加工食品に拡大された（経過措置期間平成 34 年 3 月 31 日まで）。

はちみつの平成 27 年における輸入量は 36,222 トンであり、主な輸入先（輸入量）は、中国（26,411 トン）、アルゼンチン（3,278 トン）、カナダ（2,842 トン）、ミャンマー（738 トン）、ハンガリー（721 トン）、ニュージーランド（549 トン）となっている¹⁾。一方、平成 27 年の国内生産量は 2,865 トン²⁾であり、国内生産量に比べ多量のはちみつが輸入されている。このため、はちみつに表示された原料原産地の真正性を科学的に検証する技術の開発が求められてきた。

食品における産地の科学的検証法は、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^{3) -5)}。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産地判別法である。そこで、FAMIC においても平成 27 年に、国産と中国産の判別を目的として、アカシアはちみつの元素分析による原料原産地判別法を開発した⁶⁾。アカシアはちみつはニセアカシアを蜜源としたはちみつの一般的な呼び方であり、日本で採れる主要なはちみつの一つである。

¹ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター本部

² 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

日本で採れるはちみつには、アカシアはちみつ以外にもレンゲ、ミカン、トチノキ等の様々な植物の単花蜜があり、また蜜源植物を特定しない百花蜜もある。また、上述したように、中国以外の国々からのはちみつの輸入量も多い。このため、はちみつの原料原産地判別の適用対象を拡大することが求められてきた。

はちみつの元素濃度は蜜源によって異なり、元素濃度に影響を与える要因としては、産地よりも蜜源のほうが大きいことが報告されている⁷⁾。そのため、はちみつの原料原産地判別法を元素分析により検討する場合、蜜源ごとに検討を行う必要があると考えられる⁸⁾。一方、Sr 安定同位体比は、同じ場所であれば蜜源植物の種類にかかわらず同様な値を示すと考えられる。そこで、国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構高度解析センター（以下「農研機構高度解析センター」という。）が所有する高分解能誘導結合プラズマ質量分析装置（以下「HR-ICP-MS」という。）を用いて、Sr 安定同位体比分析によるはちみつの原料原産地判別法について検討を行った。

また、アカシアはちみつについては、今回測定した元素分析データと既報⁹⁾のデータを用いて、元素分析により国産と外国産（中国産及びハンガリー産）を判別する原料原産地判別モデルを線形判別分析により構築し、Sr 安定同位体比分析との組み合わせについても検討したので報告する。

2. 実験方法

2.1 試料

Sr 安定同位体比分析には、はちみつ 273 試料（国産 135 試料、中国産 91 試料、アルゼンチン産 10 試料、カナダ産 16 試料、ミャンマー産 4 試料、ハンガリー産 10 試料、ニュージーランド産 7 試料）を用いた。国産試料の道府県別の試料点数を表 1 に示す。また、蜜源別の試料点数を表 2 及び表 3 に示す。

元素分析には、アカシアはちみつ 30 試料（国産 7 試料、中国産 5 試料、ハンガリー産 18 試料）を用いた。

国産試料は、平成 19～25 年及び平成 28 年に採取されたはちみつを業界団体を通じて入手した。外国産試料は、平成 23、24 年並びに平成 28、29 年に業界団体や小売店等を通じて入手した。

2.2 試薬

試料の陽イオン交換、分解及び調製には、陽イオン交換樹脂（DOWEX 50W X8 100-200mesh 又は 200-400mesh、ダウ・ケミカル）、61 % 硝酸（高純度電子工業用、関東化学）、60 % 過塩素酸（原子吸光分析用、関東化学又は試薬特級、和光純薬工業）、70% 過塩素酸（TAMAPURE-AA-100、多摩化学工業）を用いた。Sr の精製には、Sr レジン（50-100 μm 、eichrom technologies）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）を適宜希釈して調製した。また、In の単元素標準溶液（メルク）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。Sr 安定同位体比測定用の標準溶液は、NIST（米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。水は超純水製造装置（Super-Q システム：メルクミリポア）により製造した超純水（比抵抗値 18 $\text{M}\Omega \cdot \text{cm}$ 以上）を用いた。

表1 Sr安定同位体比分析に用いた国産試料の道府県別の試料点数

道府県	点数	道府県	点数	道府県	点数
北海道	19	長野県	12	広島県	3
青森県	5	岐阜県	2	山口県	2
岩手県	3	静岡県	4	徳島県	2
秋田県	6	愛知県	2	香川県	3
山形県	2	滋賀県	3	愛媛県	3
福島県	2	京都府	3	福岡県	3
茨城県	2	大阪府	3	佐賀県	2
栃木県	2	兵庫県	3	長崎県	3
群馬県	2	奈良県	2	熊本県	4
埼玉県	2	和歌山県	6	大分県	2
千葉県	2	鳥取県	1	宮崎県	2
神奈川県	4	島根県	3	鹿児島県	2
新潟県	2	岡山県	1	沖縄県	3
福井県	3				

表2 Sr安定同位体比分析に用いた国産試料の蜜源別の試料点数

蜜源	点数	蜜源	点数
ニセアカシア	53	アザミ	1
百花	31	エゴノキ	1
ミカン	16	キハダ	1
レンゲ	7	クリ	1
クロガネモチ	4	クローバー	1
トチノキ	4	サクラ	1
カラスザンショウ	3	シナノキ	1
ソバ ^{a)}	3	フジ	1
ハゼノキ	3	リョウブ	1
ソヨゴ	2		

a)ソバはちみつ3点中1点は、シナノキはちみつが混入したものを。

表3 Sr安定同位体比分析に用いた外国産試料の蜜源別の試料点数

国	蜜源	点数	蜜源	点数
中国	ニセアカシア	62	ショウシ	1
	レンゲ	8	ミカン	1
	ナタネ	5	モクシュク	1
	百花	5	ヤハシ	1
	ウイキョウ	1	リュウガン	1
	キュウリュウトウ	1	レイシ	1
	クコ	1	ロウガ	1
	コウキツ	1		
	アルゼンチン	百花	10	
カナダ	百花	16		
ミャンマー	百花	4		
ハンガリー	ニセアカシア	10		
ニュージーランド	クローバー	4	マヌカ	3

2.3 装置

Sr 安定同位体比 ($^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$) の測定には、農研機構高度解析センターが所有する HR-ICP-MS (ELEMENT2 : Thermo Fisher Scientific) を用いた。元素濃度の測定には、農研機構高度解析センターが所有する誘導結合プラズマ発光分光分析装置 (ICP-OES) (Agilent5100 : Agilent) 及び HR-ICP-MS (ELEMENT2 : Thermo Fisher Scientific) を用いた。

2.4 分析

2.4.1 Sr 安定同位体比分析

2.4.1.1 陽イオン交換カラム処理及び酸分解

まず、はちみつに含まれる糖類等を除去する目的で陽イオン交換カラムを用いた処理を行った。陽イオン交換樹脂を水に懸濁させ、カラム管に充填し 4 M 硝酸及び水でコンディショニングを行った。はちみつ試料 25 g に水を加えて 50 mL の混合液とし、コンディショニングを行った陽イオン交換樹脂に負荷した。水 40 mL を加えて陽イオン交換樹脂を洗浄後、4 M 硝酸 10 mL を加えて陽イオンを溶出させ、溶出液を酸分解用試料溶液とした。

次に、酸分解用試料溶液の全量を 61 % 硝酸 3 mL 及び 60 % 過塩素酸 0.5 mL で酸分解し、蒸発乾固させた。残留物を 8 M 硝酸 6 mL に溶解したものを Sr 精製用試料溶液とした。

2.4.1.2 Sr 精製

Sr 精製は石井ら⁸⁾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。Sr 精製用試料溶液の適量をコンディショニングを行った Sr レジンに負荷した。8 M 硝酸 3 mL を加えて Sr レジンを洗浄後、0.05 M 硝酸 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。

2.4.1.3 Sr 安定同位体比測定

HR-ICP-MS を用いて exponential law を用いた内部補正法⁹⁾により Sr 安定同位体比を測定した。

2.4.2 元素分析

酸分解は既報⁶⁾に準じた。すなわち、試料約 1 g を硝酸及び過塩素酸で分解し、蒸発乾固させた後、残留物を 1 % 硝酸で 50 mL に定容し、元素濃度測定用試料溶液とした。内標準用の In は定容後の濃度が 5 $\mu\text{g/L}$ となるように添加した。ICP-OES を用いて検量線法により Mg、P、K 及び Ca の 4 元素の元素濃度を測定した。また、HR-ICP-MS を用いて内標準法により Mn、Rb 及び Sr の 3 元素の元素濃度を測定した。

2.5 採取年及び蜜源の違いによる Sr 安定同位体比への影響の確認

採取地及び蜜源が同じであるが、採取年が異なるはちみつの Sr 安定同位体比の差の確認には、試料として国内 4 地域で採取したアカシアはちみつを用いた。採取地及び採取年が同じであるが、蜜源が異なるはちみつの Sr 安定同位体比の差の確認には、試料として平成 28 年に採取した国内 4 地域で採取したはちみつを用いた。これらの実験の試料調製及び Sr 安定同位体比測定は 2.4.1 のとおり行った。

2.6 アカシアはちみつの元素分析判別モデルの構築

2.4.2 で得られた元素分析のデータ (国産 7 試料、中国産 5 試料、ハンガリー産 18 試料) と既

報⁶⁾の判別モデルを構築した元素分析のデータ（国産 100 試料、中国産 65 試料）を新たな判別モデルの構築に用いた。

判別モデルの構築は、石井ら⁸⁾の方法に準じた。すなわち、各試料の試料中元素濃度及び試料中元素濃度の常用対数を説明変数として、線形判別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。線形判別は R 3.4.0 の MASS パッケージを使用し、SVM は e1071 パッケージを使用した。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。なお、解析には各試料 2 点併行で測定した結果の平均値を用い、SVM は線形カーネルのみを検討した。

2.7. アカシアはちみつの元素分析と Sr 安定同位体比分析の組み合わせ判別モデルの構築

元素分析と Sr 安定同位体比分析の両分析を行ったアカシアはちみつ試料（国産 39 試料、中国産 62 試料、ハンガリー産 10 試料）について、各試料の 2.6 で得られた元素分析判別得点及び 2.4.1.3 で得られた Sr 安定同位体比を説明変数として、2.6 と同様の方法で判別モデルを構築した。

3. 結果及び考察

3.1 採取年の違いによる Sr 安定同位体比への影響

採取地及び蜜源が同じであるが、採取年が異なるはちみつの Sr 安定同位体比の差が大きい場合には、本研究のデータ解析に影響が生じると考えられる。このため、国内 4 地域で採取したアカシアはちみつを用いて、平成 23～24 年産と平成 28 年産との Sr 安定同位体比の差の確認を行い、その結果を表 4 に示した。

平成 23～24 年産と平成 28 年産との Sr 安定同位体比の差は 0.0002～0.0016 であり、Sr 安定同位体比測定において真度確認に用いている岩石標準物質（JB-3 又は JG-1a）を繰り返し測定した場合の併行許容差（0.0010）と比較して大きな差はないことを確認した。

表 4 採取年の違いによる Sr 安定同位体比への影響

はちみつ 産地	採取年	⁸⁷ Sr/ ⁸⁶ Sr	差
北海道 A 市	平成 23 年	0.7080	0.0004
	平成 28 年	0.7076	
北海道 B 市	平成 24 年	0.7082	0.0016
	平成 28 年	0.7066	
青森県 C 町	平成 23 年	0.7059	0.0002
	平成 28 年	0.7057	
青森県 D 市	平成 23 年	0.7078	0.0008
	平成 28 年	0.7085	

3.2 蜜源の違いによる Sr 安定同位体比への影響

採取地及び採取年が同じであるが、蜜源が異なるはちみつの Sr 安定同位体比を比較し、蜜源の違いによる Sr 安定同位体比への影響があるのか否かを確認した。国内 4 地域で平成 28 年に採取したはちみつを用いて、蜜源が異なるはちみつの Sr 安定同位体比の差の確認を行い、その結果を表 5 に示した。蜜源が異なるはちみつの Sr 安定同位体比の差は、0.0002～0.0015 であり、岩石標準物質（JB-3 又は JG-1a）を繰り返し測定した場合の併行許容差（0.0010）と比較して大きな差

はないことを確認した。

表 5 蜜源の違いによるSr安定同位体比への影響

はちみつ 産地	蜜源	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	差
北海道E町	ニセアカシア	0.7073	
	アザミ	0.7075	0.0002
北海道F町	ニセアカシア	0.7086	
	ソバ	0.7071	0.0015
神奈川県G市	サクラ	0.7061	
	フジ	0.7067	0.0007
神奈川県H市	ミカン	0.7044	
	百花	0.7049	0.0005

3.3 Sr安定同位体比による国産及び外国産はちみつの判別

国産及び外国産はちみつのSr安定同位体比の測定結果の概要を表6及び図1に示した。

まず、国産試料と中国産試料を比較すると、国産試料のSr安定同位体比の範囲は0.7044~0.7134、平均値は0.7085であり、中国産試料のSr安定同位体比の範囲は0.7099~0.7206、平均値は0.7116であった(表6)。国産は中国産よりもSr安定同位体比が低い傾向がみられたが、国産と中国産の分布の重なりが大きい結果となった。特に、国産の5試料(長野県産2試料及び茨城県産、愛知県産、滋賀県産各1試料)は中国産試料の平均値より高い値を示した。これには、国内主要産地である長野県産(平成27年の都道府県別生産量全国1位²⁾)と愛知県産(同8位²⁾)が含まれており、日本産を中国産と誤って判別する可能性が高くなると予想される。そのため、Sr安定同位体比で国産と中国産を判別することは困難であると考えられた。

中国産以外の外国産はちみつについては、国産はちみつとSr安定同位体比の分布の重なりがさらに大きい結果となった(表6及び図1)。このことから、Sr安定同位体比によるはちみつの原料原産地判別は困難であると考えられた。

表 6 収集した試料中のSr安定同位体比

	最小値	最大値	平均値	標準偏差
国産 (n=135)	0.7044	0.7134	0.7085	0.0017
中国産 (n=91)	0.7099	0.7206	0.7116	0.0012
アルゼンチン産 (n=10)	0.7065	0.7078	0.7071	0.0004
カナダ産 (n=16)	0.7086	0.7247	0.7119	0.0046
ミャンマー産 (n=4)	0.7098	0.7132	0.7117	0.0015
ハンガリー産 (n=10)	0.7090	0.7105	0.7097	0.0004
ニュージーランド産 (n=7)	0.7066	0.7104	0.7084	0.0014

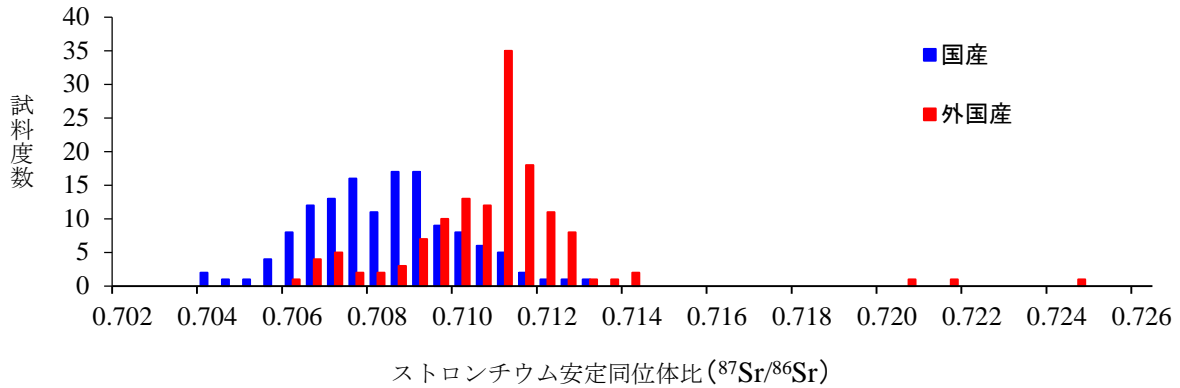


図1 収集した試料中の Sr 安定同位体比のヒストグラム

3.4 アカシアはちみつの元素分析判別モデルの構築

国産 107 点、中国産 70 点、ハンガリー産 18 点のアカシアはちみつのデータを解析して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、Rb、Sr、Ca 及び Mn の Mg に対する試料中濃度比及び濃度比の常用対数を説明変数とする判別モデルが得られた (式 1)。

$$X = -13.93 \times [\text{Rb}/\text{Mg}] + 299.1 \times [\text{Sr}/\text{Mg}] - 3.89 \times \log_{10}[\text{Ca}/\text{Mg}] + 2.669 \times \log_{10}[\text{Mn}/\text{Mg}] + 5.431 \times \log_{10}[\text{Rb}/\text{Mg}] - 6.688 \times \log_{10}[\text{Sr}/\text{Mg}] - 3.292 \quad (\text{式 1})$$

ここで、 $[\text{Rb}/\text{Mg}]$ 、 $[\text{Sr}/\text{Mg}]$ 、 $[\text{Ca}/\text{Mg}]$ 及び $[\text{Mn}/\text{Mg}]$ はそれぞれの元素の Mg に対する試料中濃度比を示す。LOOCV により得られた判別得点 X のヒストグラムを図 2 に示す。判別得点 X が正の場合は国産、負の場合は外国産と判別した。この判別モデルでは、判別モデル構築に用いた試料のうち、国産試料の 97% (104/107)、中国産試料の 100% (70/70)、ハンガリー産試料の 100% (18/18) を正しく判別した。

なお、既報⁶⁾において最適とされた判別モデルは、国産試料の 97%、中国産試料の 100% を正しく判別する判別モデルであった。このことから、既報⁶⁾の判別モデルの精度を維持しつつ、元素分析によるアカシアはちみつの原料原産地判別をハンガリー産にも適用できる可能性が考えられた。

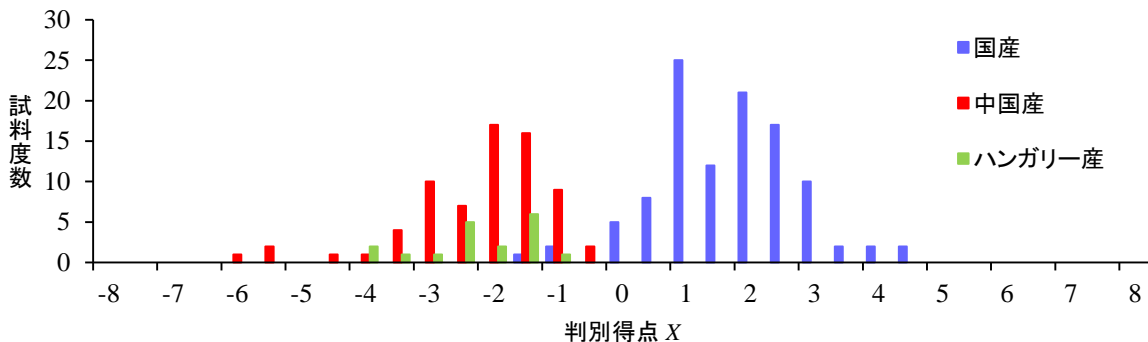


図2 構築したアカシアはちみつの元素分析判別モデルの LOOCV 判別得点のヒストグラム

3.5 アカシアはちみつの元素分析と Sr 安定同位体比分析の組み合わせ判別モデルの構築

国産 39 点、中国産 62 点、ハンガリー産 10 点のアカシアはちみつのデータを解析して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、元素分析判別モデルによる判別得点 X と Sr 安定同位体比 ($^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$) を説明変数とする判別モデルが得られた (式 2)。

$$Y = 1.032 \times X - 317.1 \times (^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}) + 225.4 \quad (\text{式 2})$$

ここで、 Y は元素分析と Sr 安定同位体比分析の組み合わせ判別モデルによる判別得点を示す。LOOCV により得られた判別得点が -0.5 以上の場合は国産、 -0.5 未満の場合は外国産と判別した。この判別モデルでは、判別モデル構築に用いた試料のうち、国産試料の95% (37/39)、中国産試料の100% (62/62)、ハンガリー産試料の100% (10/10) を正しく判別した。今回判別モデル構築に使用した国産 39 点、中国産 62 点、ハンガリー産 10 点の元素分析による判別得点 X と Sr 安定同位体比の散布図を図 3 に示す。散布図から、元素分析と Sr 安定同位体比分析を組み合わせると、元素分析単独の場合に比べて判別精度がより高くなる可能性が示唆された (図 3)。

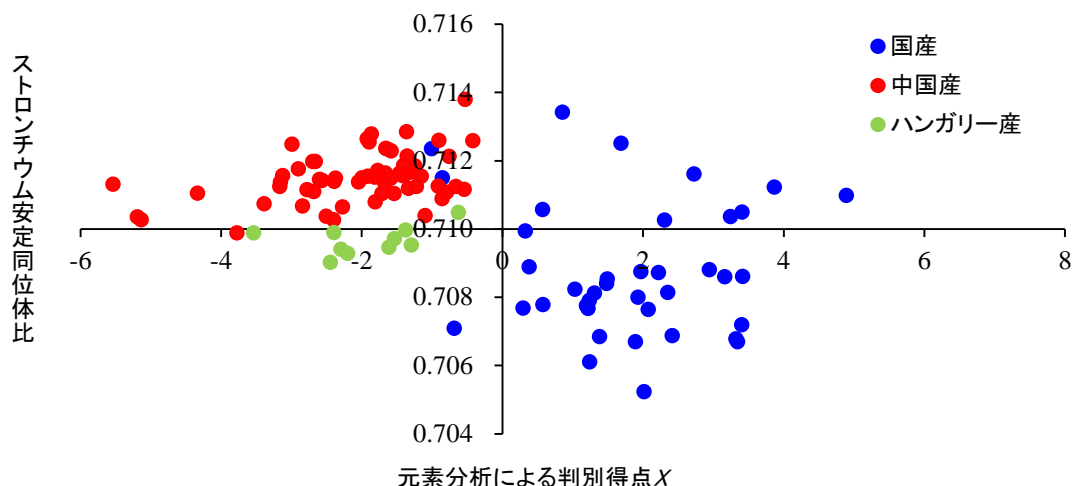


図 3 判別モデル構築に使用したアカシアはちみつ試料の判別得点 X と Sr 安定同位体比の散布図

4. まとめ

本研究では、国産はちみつ及び外国産はちみつ (中国産、アルゼンチン産、カナダ産、ミャンマー産、ハンガリー産及びニュージーランド産) について Sr 安定同位体比を利用した原料原産地判別法を検討した。その結果、国産と外国産の Sr 安定同位体比の分布の重なりが大きく、Sr 安定同位体比で国産と外国産を判別することは困難であると考えられた。アカシアはちみつについては、ハンガリー産試料等の元素分析データを追加して元素分析判別モデルの再構築を行った。その結果、判別モデル構築に使用した国産 107 試料中 104 試料、中国産 70 試料全て、ハンガリー産 18 試料全ての原料原産地を正しく判別した。このことから、元素分析によるアカシアはちみつの原料原産地判別をハンガリー産にも適用できる可能性があると考えられた。また、アカシアはちみつの元素分析と Sr 安定同位体比分析を組み合わせると、元素分析単独による産地判別法と比較して判別精度がより高くなる可能性が示唆された。

謝 辞

本研究は、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との共同研究として実施しました。Sr 安定同位体比分析及び元素分析は、国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構高度解析センターの施設及び機器を使用して実施しました。本研究を実施するにあたり、試料収集のご協力やご助言をいただきました一般社団法人日本養蜂協会、一般社団法人全国はちみつ公正取引協議会をはじめ、ご協力やご助言をいただきましたすべての皆様に心より御礼申し上げます。

文 献

- 1) 財務省貿易統計
- 2) 養蜂をめぐる情勢 (平成 28 年 10 月), 農林水産省生産局畜産部, 2017-10-06 参照,
<<http://www.maff.go.jp/j/chikusan/kikaku/lin/sonota/attach/pdf/bee-3.pdf>>
- 3) 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**(2), 70-77 (2010)
- 4) 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)
- 5) 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)
- 6) 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)
- 7) Chudzinska, M., Baralkiewicz, D.: Application of ICP-MS method of determination of 15 elements in honey with chemometric approach for the verification of their authenticity. *Food Chem. Toxicol.*, **49**, 2741-2749 (2011)
- 8) 石井修人, 箱田晃子: 原木栽培乾しいたけの元素分析と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)
- 9) 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)
- 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食品関係等調査研究報告, **37**, 1-10 (2013)

ナチュラルチーズの脂肪酸組成分析による原料原産地判別法の検討

高嶋 康晴¹, 齋藤 慎², 上野山 智洋¹, 山内 奈緒子¹

Yasuharu Takashima, Makoto Saito, Tomohiro Uenoyama, Naoko Yamauchi

要 約

国産及び欧州産のナチュラルチーズの脂質中の 15 種類の脂肪酸組成を比較し、原料産地判別の可否を検討した。国産（日本産）ナチュラルチーズ 49 点（ゴーダチーズ 26 点、カマンベールチーズ 23 点）及び欧州産ナチュラルチーズ 17 点（ゴーダチーズ 6 点、カマンベールチーズ 7 点、その他 4 点）を用い、脂肪酸組成を比較したところ、9 種類の脂肪酸組成に有意な差がみられた。このため、線形判別及びサポートベクターマシンによる判別モデルの構築を試みたが、分布が重なり十分な判別モデルの構築はできず、ナチュラルチーズにおける国産と欧州産の原料原産地判別の指標として脂肪酸組成を用いるのは困難であることが分かった。

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表示事項やその表示の方法が規定されており、平成 29 年 9 月 1 日には同基準の一部を改正する内閣府令（平成 29 年内閣府令第 43 号）が施行され、それまで一部の加工食品にのみ義務付けられていた原料原産地名の表示が、輸入食品以外の全ての加工食品に拡大された（経過措置期間平成 34 年 3 月 31 日まで）。

チーズは、ウシやヒツジ等の乳を加熱、酸、凝乳酵素等の働きにより固めたものの総称だが、一般的には、レンネット（偶蹄目の哺乳期間の胃から取った乳を固める酵素）や乳酸菌などで凝固させて製造される近代ヨーロッパ型チーズを指すことが多い。日本において、この近代ヨーロッパ型チーズが製造されるようになったのは、明治 8 年（1875 年）に北海道の開拓庁の試験場で試作されたのが始まりといわれる。消費が急激に伸びたのは、食生活が洋風化し生活水準が向上した昭和 30 年代からで、昭和 50 年代のピザの普及やチーズケーキのブームなどを経てチーズの消費は増加した^{1, 2)}。チーズは、原料乳から直接作られるナチュラルチーズとナチュラルチーズを粉砕、加熱溶解し、乳化剤等で再び固化させたプロセスチーズに大別される。平成 28 年におけるナチュラルチーズの国内生産量は 47,140 トン（プロセスチーズ原料用も含む）であるのに対して、輸入量は 246,446 トン（プロセスチーズ原料用も含む）であり、大きく海外に依存していることになる（国産割合 15.6 %）³⁾。しかしながら、現在のところ、国産原料を使用した旨の表示に対する有効な検査法がないため、表示の真正性を確認するための科学的検証方法が求められている。

これまでも、欧州産の原料乳、バター等の乳製品の脂肪酸組成を比較した報告があり⁴⁾、原料乳から直接製造されたナチュラルチーズであれば、原料乳の影響を大きく受けていると推測されることから、脂肪酸組成を指標とした国産ナチュラルチーズと欧州産ナチュラルチーズの判別の

¹ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター本部

² 農林水産省

可能性を検討した。

2. 実験方法

2.1 試料

対象のナチュラルチーズの種類としては、欧州ナチュラルチーズの輸入量が多く、国産ナチュラルチーズの製造量も多い半硬質系チーズのゴーダチーズと軟質白カビ系チーズのカマンベールチーズを中心に検討した。

国産試料^(注) 49点（ゴーダチーズ及びカマンベールチーズ）及び欧州産試料 17点（ゴーダチーズ、カマンベールチーズ、パルミジャーノ・レッジャーノ、グラナ・パダーノ、チェダーチーズ及びグリュイエールチーズ）を入手した。各試料は、国産試料については製造業者に、欧州産試料については輸入業者から産地を確認した上で入手した（表1）。

表1 収集試料

(1) 国産ナチュラルチーズ			(2) 欧州産ナチュラルチーズ		
産地 (道県名)	チーズの種類	個数(N)	産地 (国名)	チーズの種類	点数
北海道	ゴーダ	14	オランダ	ゴーダ	5
	カマンベール	12			
岩手	ゴーダ	3	ドイツ	カマンベール	5
	カマンベール	2			
秋田	カマンベール	1	フランス	パルミジャーノ ・レッジャーノ	1
宮城	ゴーダ	1			
新潟	ゴーダ	1	デンマーク	カマンベール	2
	カマンベール	1			
群馬	ゴーダ	1	イタリア	グラナ・パダーノ	1
	カマンベール	1			
埼玉	カマンベール	1	イギリス	チェダー	1
千葉	カマンベール	1	スイス	グリュイエール	1
山梨	ゴーダ	1	合計		17
	カマンベール	2			
静岡	ゴーダ	1			
長野	ゴーダ	1			
福岡	ゴーダ	1			
大分	カマンベール	1			
佐賀	ゴーダ	1			
熊本	カマンベール	1			
宮崎	ゴーダ	1			
合計		49			

2.2 試薬

実験に使用した水は純水製造装置（GS-200、アドバンテック東洋）により製造した蒸留水又はイオン交換水を用いた。油脂の抽出には 28%アンモニア水（和光純薬工業）、エタノール（95%以上、特級、関東化学又は和光純薬工業）、ジエチルエーテル（特級、関東化学又は和光純薬工業）、石油エーテル（特級、関東化学又は和光純薬工業）及びヘキサン（特級、関東化学又は和光純薬工業）を用いた。メチルエステル化には、ヘキサン、トルエン（特級、和光純薬工業）、0.5 mol/L

^(注) 国産試料の収集は著者以外に、農林水産消費安全技術センター 勝藤繁、藤本正幸、野澤慎太郎、坪根政文、荒尾祐子が担当した。

ナトリウムメトキシド・メタノール溶液 (SIGMA-ALDRICH)、酢酸 (特級、関東化学又は和光純薬工業) を 0.5 mol/L に調製したもの、硫酸ナトリウム (特級、関東化学又は和光純薬工業)、脱水メタノール (有機合成用、和光純薬工業)、炭酸水素ナトリウム (特級、関東化学又は和光純薬工業) を用いた。また、脂肪酸組成の測定では、脂肪酸メチルエステルの希釈にヘキサン、標準品として脂肪酸メチルエステル定性用混合試薬 (ジーエルサイエンス) を用いた。

2.3 装置

水素炎イオン化検出器 (Flame Ionization Detector; FID) を装備したガスクロマトグラフ (HP6890、Agilent Technologies) を用いて測定した。カラムはキャピラリーカラム (SUPELCO Omegawax™ 250、Sigma-Aldrich) (内径 0.25 mm×30 m、膜厚 0.25 μm) を用いた。

2.4 分析

2.4.1 試料調製・油脂の抽出

チーズの表面 (リンド) では微生物や脂質の分解等の影響により脂肪酸組成がばらつく可能性がある。このため試料の表面を除去した後に 1~2 mm 角程度に細切し、均一化したものを調製試料とした。

調製試料 1 g をトールビーカーに採取し、蒸留水又はイオン交換水 9 mL、28 % アンモニア水 1 mL を加え、40~50 °C の温浴中で加温し、ガラス棒でよくつぶして均一な乳濁液とした。次に、塩酸 11 mL を加え、ホットプレート上で加熱し、沸騰後 5 分間加熱を続け分解液とした。放冷後、分解液をマジョニア脂肪抽出管に移し、エタノール 10 mL を加えよく混合した。次に、マジョニア脂肪抽出管にジエチルエーテル 25 mL を加えて、栓をしてガスを抜きながら振とうし、石油エーテル 25 mL を追加し、同様にガスを抜きながら振とうさせた。マジョニア脂肪抽出管用の遠心分離器 (H-155、コクサン) を用いて 500~600 rpm で 1~2 分間遠心分離を行い、有機層を回収した。回収した有機層をロータリーエバポレーターにより溶媒を留去後、105 °C で 30 分間乾燥させ抽出油脂とした。

2.4.2 脂肪酸メチルエステル化

抽出油脂約 20 mg を栓付試験管に採取し、トルエン 1 mL を加えて溶解させた後に、0.5 mol/L ナトリウムメトキシド・メタノール溶液 2 mL を加えて混合後、室温で 10 分間静置する。次に、0.5 mol/L 酢酸 2 mL を加えて中和させた後にヘキサン 3 mL を加え、1 分間振とう後、有機層が完全に分離するまで静置した後、上層の有機層を回収した。水層にはヘキサン 2 mL を加え 1 分間振とう後、有機層が完全に分離するまで静置した後、再度有機層を回収した。回収した有機層を合わせて、硫酸ナトリウム・炭酸水素ナトリウム混合物 (2:1) を少量 (スパチュラ小さじ 1 杯程度) 加えて混合し、30 分間静置後、有機層を回収したものを試験溶液とした。

2.4.3 脂肪酸組成の測定

試料注入口温度 250 °C、FID 検出器温度 250 °C、カラム温度は 140 °C で 5 分間保持後、4 °C/分で 250 °C まで昇温させ 10 分間保持した。キャリアーガスとしてヘリウム (1.5 mL/分)、メイクアップガスとしてヘリウム (45 mL/分) を用い、スプリット比は 1:25 とし、試験溶液の注入量は 2 μL で測定を行った。各脂肪酸メチルエステルのピーク同定には、混合脂肪酸メチルエステル標準品を試料と同様に測定し、その保持時間から各脂肪酸メチルエステルピークを同定した。同定した 15 種類の脂肪酸メチルエステル (カプリル酸、カプリン酸、ラウリン酸、トリデシル酸、

ミリスチン酸、ミリストレイン酸、ペンタデシル酸、パルミチン酸、パルミトレイン酸、マルガリン酸、ステアリン酸、オレイン酸、リノール酸、リノレン酸、アラキジン酸) のピーク面積の総和に対する各脂肪酸メチルエステルのピーク面積の百分率を、各脂肪酸の組成とした。ピークの検出及び脂肪酸組成の計算にはクロマトデータシステム OpenLAB CDSChemStation (Agilent Technologies) を使用した。

2.5 判別モデルの構築

得られた 15 種類の脂肪酸組成を説明変数として、線形判別分析 (LDA) 及びサポートベクターマシン (SVM) により最適化を試みた。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⁵⁾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。なお、解析には各試料 2 点併行で測定した結果の平均値を用い、SVM は線形カーネルのみを検討した。できるだけ少ない脂肪酸組成で高い的中率が得られる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 北海道で製造されたゴーダチーズとカマンベールチーズの比較

チーズは乳酸菌の発酵、リパーゼによる脂質分解によりさまざまな揮発性の脂肪酸が生成され風味が形成されるが、表面 (リンド) 以外の部分では脂質の分解はほとんど見られないとされている⁶⁾。このため、チーズの種類間での脂肪酸組成の差異が生じ無いことを確認するために、北海道産のゴーダチーズ (N=14) とカマンベールチーズ (N=12) の脂肪酸組成をt検定により比較したところ、15種類の脂肪酸全てで、5%の有意水準を満たすp値は見られず (表2)、ナチュラルチーズの各脂肪酸の組成は種類によらないと推測された。

表2 北海道産におけるゴーダチーズとカマンベールチーズの脂肪酸組成 (%) の比較

脂肪酸名	北海道産 ゴーダチーズ (N=14)		北海道産 カマンベールチーズ (N=12)		p値	
	平均値	標準偏差	平均値	標準偏差		
8:0	カブリン酸	1.3	0.1	1.3	0.1	0.292
10:0	カブリン酸	3.3	0.3	3.3	0.3	0.713
12:0	ラウリン酸	4.1	0.4	4.1	0.3	0.847
13:0	トリデシル酸	0.1	0.0	0.1	0.0	0.759
14:0	ミリスチン酸	13.2	0.6	13.4	0.6	0.323
14:1(n-4)	ミリストレイン酸	1.2	0.1	1.3	0.1	0.073
15:0	ペンタデシル酸	1.3	0.1	1.4	0.1	0.468
16:0	パルミチン酸	35.5	1.9	35.6	1.3	0.886
16:1(n-7)	パルミトレイン酸	1.9	0.2	1.9	0.1	0.953
17:0	マルガリン酸	0.6	0.1	0.6	0.1	0.770
18:0	ステアリン酸	11.5	1.3	11.3	0.8	0.580
18:1(n-9)	オレイン酸	22.7	1.7	22.5	1.3	0.749
18:2(n-6)	リノール酸	2.7	0.5	2.7	0.4	0.776
18:3(n-6)	リノレン酸	0.5	0.2	0.4	0.1	0.432
20:0	アラキジン酸	0.2	0.0	0.2	0.0	0.825

3.2 国産ナチュラルチーズと欧州産ナチュラルチーズの比較

国産ナチュラルチーズ (N=49) と欧州産ナチュラルチーズ (N=17) の脂肪酸組成を比較したところ、15種類の脂肪酸のうち9種類の脂肪酸 (ラウリン酸、ミリストレイン酸、ペンタデシル

酸、パルミチン酸、パルミトレイン酸、ステアリン酸、オレイン酸、リノール酸、リノレン酸)に5%の水準で有意な差が見られ、特に、リノレン酸では0.5%の水準で有意な差が見られた(表3、図1)。中西らの報告⁴⁾では、国産牛乳の乳脂肪は、パルミトレイン酸とリノール酸以外の不飽和脂肪酸(ミリストレイン酸及びオレイン酸)がやや多いとあるが、リノール酸は国産の方がやや多い結果となったもののその差異はわずかであり、顕著な差では無いと推測された。

表3 国産ナチュラルチーズと欧州産ナチュラルチーズの脂肪酸組成(%)の差異

脂肪酸名	国産ナチュラル チーズ (N=49)		欧州産ナチュラル チーズ (N=17)		p値		
	平均値	標準偏差	平均値	標準偏差			
8:0	カブリン酸	1.3	0.1	1.3	0.0	0.630	
10:0	カブリン酸	3.2	0.3	3.2	0.2	0.487	
12:0	ラウリン酸	3.9	0.4	4.2	0.3	0.008	*
13:0	トリデシル酸	0.1	0.0	0.1	0.0	0.219	
14:0	ミリスチン酸	13.0	0.7	13.2	0.6	0.351	
14:1(n-4)	ミリストレイン酸	1.2	0.1	1.2	0.1	0.036	*
15:0	ペンタデシル酸	1.3	0.1	1.3	0.1	0.015	*
16:0	パルミチン酸	35.4	1.6	36.6	1.4	0.005	*
16:1(n-7)	パルミトレイン酸	1.8	0.2	1.9	0.2	0.011	*
17:0	マルガリン酸	0.6	0.1	0.6	0.2	0.772	
18:0	ステアリン酸	12.0	1.5	11.3	0.7	0.009	*
18:1(n-9)	オレイン酸	22.8	1.4	22.0	1.2	0.017	*
18:2(n-6)	リノール酸	2.8	0.5	2.4	0.6	0.008	*
18:3(n-6)	リノレン酸	0.4	0.1	0.5	0.1	0.002	**
20:0	アラキジン酸	0.2	0.0	0.2	0.0	0.106	
*	5%の水準で有意な差が見られた脂肪酸						
**	0.5%の水準で有意な差が見られた脂肪酸						

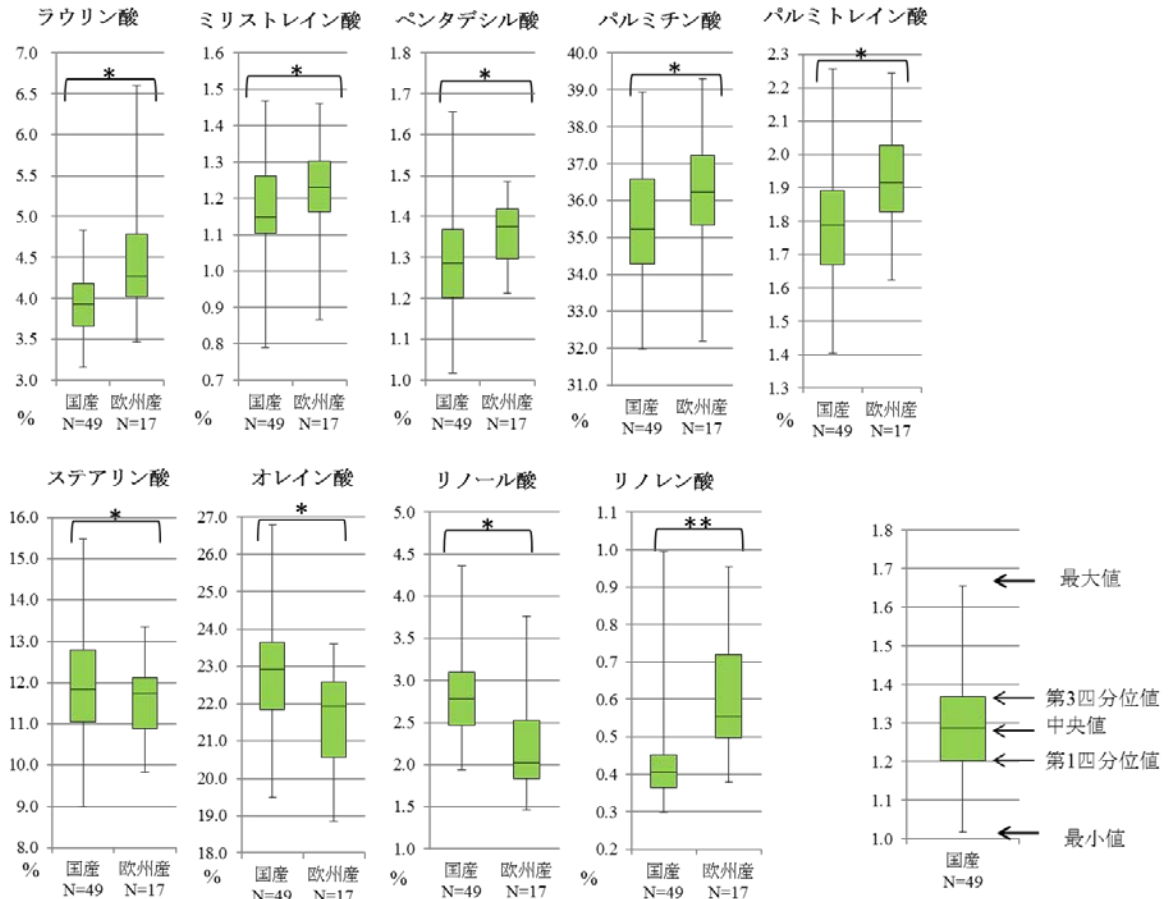


図1 国産ナチュラルチーズと欧州産ナチュラルチーズ間で有意な差が見られた脂肪酸組成(%)の箱ひげ図

* 5%の水準で有意な差が見られた脂肪酸、** 0.5%の水準で有意な差が見られた脂肪酸

3.3 国産ナチュラルチーズと欧州産ナチュラルチーズの判別モデルの最適化について

得られた15種類の脂肪酸組成を説明変数として、線形判別分析(LDA)及びサポートベクターマシン(SVM)により最適化を試みた(式1及び2)。しかしながら、判別得点が正の試料を国産、負の試料を欧州産と判別した場合、LDAで国産試料の77.6%、欧州産試料の82.4%、SVMで国産試料の81.6%、欧州産試料の82.4%的の中率となり、十分な中率といえなかった。このため、国産と欧州産で有意差がある脂肪酸組成はあったものの、検査に用いるには困難と推定された。

(式1 : LDAによる最適化された判別式)

$$(\text{判別得点}) = -0.309 \times [\text{カブリン酸}(\%)] - 1.444 \times [\text{ミリストレイン酸}(\%)] + 1.073 \times [\text{リノール酸}(\%)] - 5.428 \times [\text{リノレン酸}(\%)] + 2.607$$

(式2 : SVM線形カーネルによる最適化された判別式)

$$(\text{判別得点}) = -0.904 \times [\text{ラウリン酸}(\%)] - 1.292 \times [\text{ミリストレイン酸}(\%)] + 0.174 \times [\text{オレイン酸}(\%)] - 6.049 \times [\text{リノレン酸}(\%)] + 4.815$$

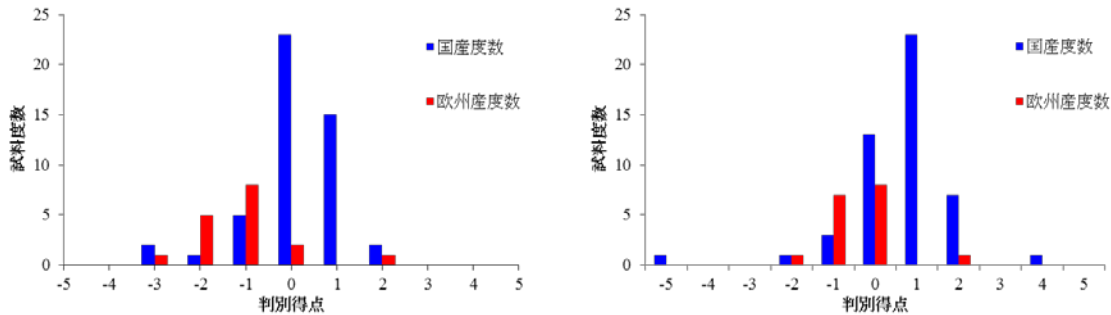


図2 判別モデルの最適化について線形判別分析 (LDA) (左) 及びサポートベクターマシン (SVM) (右) による最適化の結果による分布図

4. まとめ

国産及び欧州産のナチュラルチーズの脂質中の15種類の脂肪酸組成を比較し、原料原産地判別の可否を検討した。国産ナチュラルチーズ49点及び欧州産ナチュラルチーズ17点を用い、脂肪酸組成を比較したところ、15種類の脂肪酸のうち9種類の脂肪酸組成に有意な差がみられた。このため、線形判別分析及びサポートベクターマシンによる判別モデルの構築を試みたが、的中率が90%以上の判別モデルを構築できず、ナチュラルチーズにおける国産と欧州産の原料原産地判別の指標として脂肪酸組成を用いるのは困難であることが分かった。

謝 辞

本研究を実施するにあたり、試料の提供やご助言をいただきました農業協同組合、製造事業者、輸入業者等の皆様に心より御礼申し上げます。

文 献

- 1) 大谷元：チーズの起源と歴史（現代チーズ学），New Food Industry, 49(10)，食品資材研究会, 25-36(2007)
- 2) 牛乳・乳製品の知識，一般社団法人Jミルク，2017-09-1，<http://www.j-milk.jp/tool/kiso/berohe000004ak6-att/allpage.pdf>
- 3) 平成28年度チーズの需給表，農林水産省，2017-09-1，http://www.maff.go.jp/j/tokei/kouhyou/cheese_zyukyu/attach/pdf/index-2.pdf
- 4) 中西武雄，中江利孝，須山征明：ガスクロマトグラフィーによる本邦産牛乳脂肪の脂肪酸組成に関する研究（第5報）北海道及び東北地方のバター脂肪の脂肪酸組成とその季節的及び地理的変動について，日本農芸化学会誌, 36(12)，994-1000(1962)
- 5) 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)
- 6) 長沢太郎：チーズの風味上の最近の諸問題，日本畜産学会報, 34(5)，303-310(1963)

**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
第41号**

平成29年12月発行

発行： 独立行政法人 農林水産消費安全技術センター

〒330-9731 埼玉県さいたま市中央区新都心2-1

さいたま新都心合同庁舎検査棟

電話： 050 - 3797 - 1851

FAX： 048 - 600 - 2373

印刷： 名取印刷工業株式会社