

# 無機元素組成によるネギの原産国判別

## 1. はじめに

2002年1月、雪印食品が国によるBSE対策を悪用し、牛肉の原産地表示を偽装していたことが明らかになったのを端緒に、食品業者による原産地表示の偽装が立て続けに発覚した。表示偽装に関する事件が連日テレビ報道され、新聞紙面上を賑すようになると、消費者の食品表示に対する不信感が一気に増大し、表面化することとなった。もっとも、このような事件が発覚する前から、食品の品質および安全性や健康に対する消費者の関心は高まってきており、食品の多様化と相まって1999年にJAS法（農林物資の規格化及び品質表示の適正化に関する法律）が改正され、2000年7月からは全ての生鮮食品に対して原産地表示が義務付けられていた。しかし、現実にはJAS法改正前だけでなく、改正以降にも表示の不正は行われており、偽装表示に対する罰則が強化され、行政当局および消費者によるモニタリングの目が厳しくなっているにもかかわらず、いまだに表示の偽装が摘発されている。これに対して行政当局も手をこまねいて見ているだけでなく、消費者のモニターや買い上げ検査を増やすことで対応しているが、食品表示、特に原産地表示の偽装を見破ることは難しいのが現実である。

食品の原産地を識別する方法には、以下の3つの方法がある。一つ目は、外見や食味、香りなど、人の五感で原産地を推定する官能検査である。二つ目は、業者が保管している伝票などの書類を調べることで、商品や原材料の入手先から販売先までを確認し、産地を判断する書類検査である。三つ目は、食品に含まれる成分の含有量やDNAを分析機器を使用して分析することで産地を判定する理化学検査である。これらの検査が現在表示チェックのために行われているが、どれも簡単に行える方法ではなく、検査の正確さの面でも問題が残る。官能検査で推定する方法は熟練を要すると共に、客観性がないことから、疑わしい物が見つかった場合には書類検査などで必ず確認する必要がある。書類検査では証拠となる書類が残っていれば正しく判断できるが、必ずしもそうはいかない。また、業者の協力も必須であり、非常に手間のかかる方法でもある。理化学検査では、客観的な結果が得られることから、原産地を判別する手法の開発が以前から切望されているが、未だ、実用に耐えうる手法は確立されていない。理化学分析による研究としては、非常に達成することが困難なテーマであるが、現在多くの試験・研究機関で取り組まれている。今後の展開が楽しみな分野であるとも言える。

## 2. 理化学検査による原産地の判別

### 2.1 DNA による判別

すでに実用化されているものとして、(独)食品総合研究所が開発した DNA の塩基配列の違いによる米の品種識別法が信頼性の高い手法として広く行われ<sup>1)2)</sup>、これまでに多くの品種の偽装が摘発されている。他に、ウナギ<sup>3)</sup>、イチゴ、白インゲン豆などがある。

DNA による品種判別手法では、品種に特有の塩基配列を特定するのに非常に労力を要するが、ひとたびその塩基配列が特定できれば正確に品種を識別できるという点で非常に優れた手法である。しかし、この手法では品種の識別は正確に行うことができるが、産地までは識別できない。現在、各産地で生じた変異に起因する塩基配列の変化を利用した米の産地判別についての研究が行われている。また、識別した品種から産地を推定する方法も有効な手段として考えられる。ただし後で紹介するネギのように、日本品種の種苗が海外に持ち込まれ、栽培されて日本に輸入されるような場合には対応できない。

### 2.2 含有成分による産地判別

海外では、欧米を中心にかなり以前から産地判別の研究が行われている。特にフランスでは、ワインの産地を理化学的に判別する研究が多数報告されている<sup>4)-6)</sup>。これは、ワインは産地により価格が大きく変わるとともに、外見や味覚による識別も難しく、ラベルを偽るだけで価格を何倍にも引き上げるような偽装が容易に行える事が一因にある。また、フランスではワインやチーズなどに対し、AOC(原産地呼称統制)など、優良な品質の製品を産する産地である事を保証する認証制度が古くからあり、こうした制度の信頼性を維持するためにも理化学的な原産地判別手法の開発が早くから求められてきた。フランス以外の国でも主にヨーロッパでワインの産地を判別する研究がなされてきた<sup>7),9)</sup>。他に、コーヒー<sup>10),11)</sup>、茶<sup>12),13)</sup>、オレンジジュース<sup>14)</sup>、オリーブオイル<sup>15)</sup>などの産地判別に関する研究報告がある。これら加工食品の産地判別に関する研究はかなり行われているが、生鮮食品に関してはジャガイモ<sup>16)</sup>などで報告があるが、報告例は少ない。

日本では最近になって表示偽装の問題が浮上り、理化学的に産地を判別する研究が行われるようになった。しかし、それ以前には一部を除いてあまり行われておらず、産地判別技術開発の要望の高いコメ<sup>17),18)</sup>についての報告があるが、報告例は少ない。現在行われている研究としては、2001 年度から筆者らがネギの判別に取り組んでいる。他に、2002 年度からスタートしたプロジェクトでは、茶、ウメ、プロッコリーおよび漬物などがあり、2003 年度からはタマネギの判別プロジェクトがスタートしている。また、消費者からの強い要望により、原料原産地の表示を義務付ける方向で JAS 法改正の検討が進められていることから、今後、加工食品の産地判別手法の開発も求められてくると考えられる。

### 2.2.1 有機成分による判別

有機成分による産地判別手法としては、カカオ豆および小麦の脂肪酸組成<sup>19),20)</sup>、オレンジジュースの各種カロテノイド濃度<sup>14)</sup>、赤ワインのフラボノイド濃度<sup>21)</sup>、はちみつのpH、酸度、灰分および糖組成<sup>22)</sup>などによる判別が報告されている。しかし、この手法を農産物の判別に適用する場合には、収穫時期（成熟度）や収穫後の保存期間の長さで成分濃度あるいは組成の変化のないことを確認する必要がある。また、同じ畑あるいは産地で栽培されたものでも個体差が大きくなることや、年による変動などの懸念もあり、こうした点に対しても問題のない事を確認する必要があるため、有機成分を産地判別に利用するのは難しいのが実状である。

### 2.2.2 無機元素組成による判別

無機元素組成による産地判別としては、ワイン<sup>7)</sup>、オレンジジュース<sup>23)</sup>、コーヒー<sup>11)</sup>、茶<sup>12),13)</sup>、ジャガイモ<sup>16)</sup>、コメ<sup>17)</sup>など、多くの報告がある。現在国内で行われている産地判別の研究のほとんどは無機元素組成によるものである。無機元素組成による産地判別では、産地による土質の違いや、稲のように水を大量に要する植物では、土質と水の違いがそこで栽培された農産物の無機元素組成に反映されることで判別を可能にしている。有機成分による判別と違い、収穫後に変化することが無いために保存による影響はなく、通常通り収穫されたものであれば収穫時期（成熟度）による差は小さいと考えられる。また、同じ土質で同じ水を用いたほ場であれば個体差も小さいと考えられる。しかし、この判別手法にもやはり問題点がある。対象とする元素を何にするかにもよるが、例え隣り合ったほ場でも土質や水、施肥状況が違えば、栽培された農産物の無機元素組成も変わる可能性がある。そのため、ある特定の農産物の判別手法を確立するには、対象とする各産地内の多くのほ場で栽培された農産物に対して無機成分組成のデータを蓄積する必要がある。非常に時間と労力を要する。現実的には全てのほ場の農産物を分析する事は不可能であるため、100%正確に判別することはできない。ただし、判別したい産地に、他に比べて著しく多く、あるいは少なく存在する元素を見つければ、限りなく正確に判別することは可能である。また、データの蓄積が多ければ多い程信頼性の高い判別手法にすることができる。

### 2.2.3 同位体比による判別

同位体比による産地判別手法としては、D/H（水素同位体比）と<sup>13</sup>C/<sup>12</sup>C（炭素同位体比）によるワイン<sup>8)</sup>、<sup>13</sup>C/<sup>12</sup>Cと<sup>18</sup>O/<sup>16</sup>O（酸素同位体比）によるオリーブオイル<sup>15)</sup>、D/H、<sup>13</sup>C/<sup>12</sup>C、<sup>18</sup>O/<sup>16</sup>Oおよび無機元素濃度によるワイン<sup>5)</sup>、<sup>13</sup>C/<sup>12</sup>Cと<sup>15</sup>N/<sup>14</sup>N（窒素同位体比）によるココイン<sup>24)</sup>、<sup>11</sup>B/<sup>10</sup>B（ホウ素同位体比）によるコーヒー<sup>10)</sup>、<sup>11</sup>B/<sup>10</sup>Bと<sup>87</sup>Sr/<sup>86</sup>Sr（ストロンチウム同位体比）によるコメ<sup>18)</sup>、などの報告がある。なお、国内での報告例はホウ素とストロンチウム同位体によるコメの判別のみ

であるが、現在、 $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  と鉛同位体比によるネギの産地判別など、いくつかの研究機関で取り組まれている。

ストロンチウムや鉛のような重元素の同位体比では同位体間の相対的な質量差が小さいため、動・植物による吸収や代謝、および温度や pH、共存する元素あるいはイオン等の環境、による同位体比の分別（質量差別効果）が小さい。このことは、土壤中の重元素のうち植物に利用可能な形態にある元素が植物中の重元素とほぼ同じ同位体比になると共に、同じ環境下で栽培されていれば違う種類の農産物でもほぼ同じ同位体比となることを示す。また、これらの同位体比は地質の形成年代によって変わるため、当然地理上の違いが同位体比に反映される。これらのことから、判別したい産地の間でこれらの同位体比に有意な差が確認できれば、信頼性の高い原産地判別手法を確立できることになる。しかし、この判別手法にもいくつかの問題点がある。ストロンチウムあるいは鉛の同位体比の産地による差は非常にわずかであるため、農産物等の産地の判別には高精度の測定が求められ、前処理に多大な時間を要する。マルチコレクター型の ICP-MS（誘導結合プラズマ質量分析計）を用いれば時間を短縮できるが、高価な装置であるため、まだ限られた研究機関でしか利用されていない状態である。

### 3. 無機元素組成によるネギの原産国判別

#### 3.1 背景と目的

近年、海外からの生鮮野菜等の輸入急増がその国内価格を下落させ、農家経営を大きく圧迫している。そこで、2001 年にはネギ・イグサ・生シタケを対象とした暫定のセーフガードが中国に対して発動された。結局、正式なセーフガードの発動は見送られたが、安価な輸入農産物が国内農家に与えている影響は依然として大きい。このような情勢に対応し、国内農家の優位性を保つためには JAS 法に基づく原産地表示を徹底させると共に、適性に表示がなされているかどうかを検証する技術の開発が必要である。こうした行政部局からの要請に応え、行政対応研究としてネギの原産国判別技術の開発を目的とした研究が 2001 年度から 3 年計画で行われている。また、前述のように、原産地表示を消費者にとって信頼性のあるものにする上でも、このような技術の開発は求められている。

さて、日本に輸入されてくる生鮮ネギ（白ネギまたは根深ネギ）の大部分は中国産である。これらは日本の商社などが日本の種子を中国に持ち込み、日本人の嗜好に会うように指導して日本向けのネギを栽培し、日本に輸入する開発輸入によるものである。中国でも元々ネギは栽培されているが、日本のネギとは味や形状が異なるため、日本の消費者には受け入れられず、特別に日本向けのネギを栽培する必要がある。そこで、人件費が安く、ネギ栽培の経験があり、南北に広い国土を持つため産地を移すことで通年栽培することができ、日本からの距離も近いために生鮮のネギを輸送するにも都合の良い、中国からのネギの輸入が増大した。従って、本研

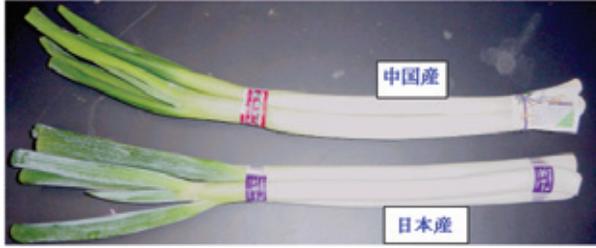


図 1 国産ネギと中国産ネギ

究では国産か中国産かの判別ということで研究が行われている（図 1）。

なお、このプロジェクトでは、筆者らが行っている無機元素組成により、迅速かつ簡便にネギの原産国をスクリーニング判別する技術の開発と共に、独立行政法人・農業環境技術研究所と東京工業大学のグループが行っている  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  と鉛同位体比により判別する技術の開発が行われている。後者のグループの手法では、分析に時間がかかる点と、特殊な装置で測定する必要がある（東京工業大学にあるマルチコレクター型の ICP-MS を使用）点が問題となっているが、より信頼性の高い判別手法との位置付けで行われている。以下に筆者らの取り組みを紹介する。

### 3.2 部位別分析

生鮮食品を無機元素組成によりの産地判別判別する上で問題となるのが、部位による含有濃度の違いである。特にネギでは、根に近い白色をした下部と緑色をした上部とで元素濃度が大きく異なるだけでなく、内側と外側でも元素濃度が異なっている。また、ネギは上部が既に切り取られて売られているため、ネギ全体を分析対象にすることはできない。従って、サンプリングによる変動ができるだけ小さくなるように分析部位を決める必要がある。分析対象部位の候補としては、ネギ基部からの位置関係から部位の特定がしやすく、上部のように既に切り取られているようなこともない下部の白い部分が挙げられる。この部位を分析対象部位として決める前に部位による元素の濃度分布がどうなっているか調べた。

#### 3.2.1 下部、中部、上部の部位別分析<sup>25)</sup>

下部、中部、上部として、それぞれ基部から 1cm 上の上部 10cm の部位、白い部分と緑色の部分の境目から 5cm 下の下部 10cm の白または薄い緑色の部位、白い部分と緑色の部分の境目から 5cm 上の上部 10cm の緑色の部位を 25 本分採取して試料とした。29 元素の定量結果を表 1 に示す。全体的にネギ上部の緑色の部位の方が下部の白い部位よりも濃度の高いことが分かった。特に、Al, Fe, Mn, La, Ce, Nd, Pb で著しかった。Na, Co, Ni, Cu, Zn, Cd 及び Tl ついては、ネギの下部と

表 1 FAAS, ICP-AES および ICP-MS により得られたネギの下部, 中部, 上部の無機元素分析結果

元素	装置	測定値 <sup>1)</sup>			検出限界
		下部 <sup>2)</sup>	中部 <sup>3)</sup>	上部 <sup>4)</sup>	
		wt% <sup>5)</sup>			wt%
P	ICP-AES	0.383 ± 0.014	0.366 ± 0.012	0.433 ± 0.015	0.002
K	ICP-AES	1.43 ± 0.05	1.73 ± 0.07	2.15 ± 0.06	0.008
Ca	ICP-AES	0.321 ± 0.024	0.360 ± 0.023	0.566 ± 0.004	0.0008
		µg/g <sup>5)</sup>			µg/g
Na	FAAS	99 ± 0	113 ± 5	114 ± 2	1
Mg	ICP-AES	1186 ± 93	1169 ± 75	1765 ± 53	1
Al	ICP-MS	8.8 ± 0.4	11.3 ± 0.5	47.6 ± 3.4	0.5
Mn	ICP-AES	17.9 ± 0.1	28.6 ± 1.6	49.7 ± 1.0	0.4
Fe	ICP-AES	18 ± 1	25 ± 1	66 ± 2	3
Co	ICP-MS	0.12 ± 0.01	0.11 ± 0.01	0.15 ± 0.01	0.01
Ni	ICP-MS	1.41 ± 0.02	1.14 ± 0.04	1.40 ± 0.04	0.04
Cu	ICP-AES	2.3 ± 0.1	2.4 ± 0.1	2.8 ± 0.1	0.9
Zn	ICP-AES	22 ± 1	19 ± 1	20 ± 1	2
Rb	ICP-MS	3.2 ± 0.0	3.3 ± 0.1	4.7 ± 0.2	0.4
Sr	ICP-AES	14.7 ± 0.1	15.8 ± 1.2	18.3 ± 0.2	0.1
Mo	ICP-MS	0.10 ± 0.01	0.22 ± 0.03	0.36 ± 0.02	0.02
Cd	ICP-MS	0.199 ± 0.016	0.107 ± 0.005	0.119 ± 0.018	0.003
Te	ICP-MS	ND <sup>6)</sup>	ND	ND	0.01
Cs	ICP-MS	0.006 ± 0.001	0.004 ± 0.000	0.010 ± 0.001	0.003
Ba	ICP-AES	3.5 ± 0.2	4.6 ± 0.4	5.9 ± 0.2	0.6
La	ICP-MS	0.009 ± 0.001	0.008 ± 0.003	0.030 ± 0.002	0.006
Ce	ICP-MS	0.012 ± 0.000	0.020 ± 0.004	0.074 ± 0.008	0.002
Nd	ICP-MS	ND	ND	0.030 ± 0.013	0.006
Sm	ICP-MS	ND	ND	ND	0.008
Eu	ICP-MS	ND	ND	ND	0.003
Tb	ICP-MS	ND	ND	ND	0.006
Yb	ICP-MS	ND	ND	ND	0.005
W	ICP-MS	ND	ND	ND	0.008
Tl	ICP-MS	0.008 ± 0.000	0.005 ± 0.000	0.008 ± 0.001	0.002
Pb	ICP-MS	0.02 ± 0.01	0.02 ± 0.01	0.11 ± 0.02	0.01
水分 (%)		91.0	92.0	92.3	

1) 平均値 ± 標準偏差 (n=3)

2) ネギの基部から上 1cm から 10cm の部位 .

3) ネギの白い部分と緑色の部分の境目から 5cm 下の 10cm の白または薄い緑色をした部位 .

4) ネギの白い部分と緑色の部分の境目から 5cm 上の 10cm の緑色をした部位 .

5) 単位は乾重量当たりの元素濃度 .

6) ND = 未検出



図 2 ネギの分析対象部位

上部とでほとんど濃度差が無かった。ネギの下部と上部とで濃度差が無ければ、下部あるいは上部どこを使っても、そのネギに含まれる元素濃度として扱うことができるが、多くの元素で濃度が異なることが確認できた。そこで、既に切り取られて店頭に並べられているため、緑色の部分の状態が一定していない上部よりも、部位を特定しやすく、安定して採取できるネギの下部を分析対象部位とした(図 2)。また、ネギの下部 10cm の部位において、濃度が検出限界以上になった Na, Mg, Al, P, K, Ca, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Rb, Sr, Mo, Cd, Cs, Ba, La, Ce, Tl, Pb の 22 元素を分析対象とすることに決めた。

### 3.2.2 外側と中心部の部位別分析<sup>25)</sup>

中心部と外側とでの無機元素の含有量の違いでは、Al, Co, Pb において、ネギの外側の方が中心部よりも含有量が著しく大きかった(表 2)。他に、Ca, Mn, Sr, Cd, Ba, La, Ce, Tl において、ネギの外側の方が中心部よりも含有量が大きかった。一方、P, K, Mg, Fe, Cu, Rb, Cs では、ネギの中心部の方が外側よりも含有量が大きかった。Na, Zn, Mo はネギの中心部と外側で含有量の差が小さかった。Na と Zn については、ネギの下部と上部での差も小さく、ネギ全体で均一に存在していると思われる。

以上のことから、Al, Co, Pb、この中でも特に Al については、ネギの外側と中心部とで濃度が著しく異なるため、調製の際に外側の皮が何枚剥かれたかによって、同じ産地でも濃度差が大きくなる可能性のあることが分かった。しかしながら、ネギの調製は上部の緑色の部分の分岐が 3 本になるよう、統一した基準のもとで行われている。日本に輸入されてくるネギは全て現地で調製された状態のネギであるため、外側をさらに剥くことはせずに、そのまま外側を十分に洗浄して分析に供する事とした。

## 3.3 ネギの原産国判別のための分析方法

### 3.3.1 試料

産地判別の研究の進める上で、最も頭を悩ませる問題の 1 つが、産地の確かな試料の入手である。現実問題として、由来の定かな試料を、対象とする各産地の様々な地域から多数入手することは非常に困難であり、このことがこれまで産地判別の

表 2 FAAS, ICP-AES および ICP-MS により得られたネギの中心部, 外側から 2 枚目, 外側から 1 枚目の無機元素分析結果<sup>1)</sup>

元素	中心部 wt% <sup>2)</sup>	外側から 2 枚目	外側から 1 枚目
P	0.317 ± 0.005	0.205 ± 0.003	0.155 ± 0.002
K	1.82 ± 0.04	1.47 ± 0.00	1.23 ± 0.00
Ca	0.106 ± 0.03	0.206 ± 0.008	0.327 ± 0.015
	μg/g <sup>2)</sup>		
Na	67 ± 1	61 ± 14	65 ± 12
Mg	640 ± 14	358 ± 10	315 ± 12
Al	1.4 ± 0.2	2.8 ± 0.2	9.4 ± 1.8
Mn	55.7 ± 1.3	63.2 ± 2.5	72.1 ± 2.8
Fe	17 ± 1	10 ± 1	10 ± 0
Co	0.01 ± 0.00	0.03 ± 0.01	0.09 ± 0.00
Ni	3.11 ± 0.17	2.26 ± 0.22	2.58 ± 0.24
Cu	2.7 ± 0.1	0.8 ± 0.1	0.6 ± 0.1
Zn	26 ± 0	22 ± 1	24 ± 1
Rb	8.4 ± 0.5	5.4 ± 0.4	5.0 ± 0.4
Sr	3.3 ± 0.1	7.2 ± 0.4	10.2 ± 0.5
Mo	0.04 ± 0.01	0.02 ± 0.00	0.04 ± 0.00
Cd	0.348 ± 0.007	0.483 ± 0.031	0.581 ± 0.021
Cs	0.016 ± 0.001	0.009 ± 0.000	0.010 ± 0.000
Ba	1.1 ± 0.2	0.0 ± 0.2	2.9 ± 0.3
La	0.008 ± 0.001	0.020 ± 0.001	0.033 ± 0.002
Ce	0.007 ± 0.001	0.019 ± 0.001	0.030 ± 0.002
Tl	0.042 ± 0.001	0.066 ± 0.002	0.067 ± 0.001
Pb	0.01 ± 0.00	0.03 ± 0.02	0.07 ± 0.01
乾重量比	0.614	0.190	0.196

1) 平均値 ± 標準偏差 (n=3)

2) 単位は乾重量当たりの元素濃度。

研究が進まなかった大きな原因の 1 つであった。しかし、これが成されなければ、研究を遂行することができないのも事実である。本研究では、国産のネギは 53 産地から 65 検体を直接入手した (図 3)。中国産から輸入されてくるネギについては山東省、上海市、福建省産のものが大部分である。季節に応じて産地が移り変わり、6 月から 12 月は山東省産、12 月から 3 月は上海市産、3 月から 6 月は福建省産のネギが輸入されてくる。輸入量の多さは前記の順になっている。よって、中国産は特定の商社から山東省安丘市産 18 検体と福建省アモイ産 8 検体を、特定の商社および卸売業者から上海市産 10 検体の計 36 検体入手した (図 3)。これらの試料は、各試料が由来するほ場からのネギを代表するデータとするため、それぞれ 25 本分を粉碎して分析し、無機元素組成のデータを蓄積した。しかし、国産表示



図3 収集した国産ネギ 65 件と中国産ネギ 36 件の地図上の位置

ネギ 1 束のうち 1 本だけ中国産が混ぜられるようなケースも考えられるため、実用的にはネギ 1 本での判別が求められる。そこで、前記の産地の定かな試料についてネギ 1 本での分析を行うと共に、店頭で買い上げたネギについてもネギ 1 本の分析を行った。店頭で買い上げたネギは、国産表示 22 検体、中国産表示 41 検体である。なお、国産表示ネギは偽装されている可能性がある。中国産ネギは現在国産の半額程度で売られており、消費者からあまり良い印象を持たれていないことから、わざわざ国産を中国産と表示して安く売ることが考えにくいから、中国産表示ネギは間違い無く中国産と考えられる。また、中国産のネギは既に外側の皮を剥かれて調製され、土が付いていない状態であるため、ネギ試料は全て既に調製された土の付いていないものを入手した。

以上のネギ試料をまとめると、下記ようになる。

ネギ 25 本分または 1 本分を粉碎処理した下記の計 203 検体を試料として用いた。

1. 産地の確かなネギ 25 本分：

1-1 国内産 53 産地 65 検体（産地から直接入手）

1-2 中国産 3 産地 36 検体（商社または卸売会社から入手）

2. 産地の確かなネギ 1 本分：

2-1 国内産 14 産地 14 検体（10 検体は 1-1 と同一ロット）

2-2 中国産 3 産地 25 検体（それぞれ別ロットで、22 検体は 1-2 と同一ロット）

3. 店頭から買い上げたネギ 1 本分：

3-1 国産表示 22 検体

3-2 中国産表示 41 検体

### 3.3.2 前処理

ネギ試料は、水道水で外側を良く洗い流し、次いで、純水および超純水でリンスした。25 本分析試料は、セラミック製ナイフで分析対象部位（ネギの基部から 1cm 上の 10cm の部位）を切り取り、ネギ 25 本分をチタンコート刃のクッキングカッターにより粉碎し、測定試料とした。これを、硝酸 - 過塩素酸 - フッ化水素酸によりホットプレートを用いて湿式分解し、ICP 測定用検液とした。Na 定量用の検液は、ブランク値が高くなることとネギ中の濃度が低いことから、別に 1% 塩酸抽出により調製した。

1 本分析試料は試料量が少ないため、前処理方法も一部改変した。ネギの粉碎はクッキングカッターの代わりに茶ミルで粉碎し、さらに乳鉢で潰して試料とした。後の酸による分解は超高純度試薬を用いることで、1% 塩酸抽出はせずに Na 測定にも用いた。

水分測定は 70°C 常圧乾燥法により測定した。

### 3.3.3 機器測定

測定対象元素はネギについて精度よく定量でき、NIST の標準物質（Spinach および Apple Leaves）により分析方法の精確さを確認した<sup>25)</sup> 22 無機元素とした。Na はフレイム原子吸光光度分析により、K, Ca, P, Mg, Fe, Zn, Sr, Ba, Mn および Cu は ICP-AES（誘導結合プラズマ - 発光分析法）により、Al, Rb, Ni, Mo, Co, Cd, Cs, La, Ce, Tl および Pb は ICP MS（誘導結合プラズマ - 質量分析法）により定量した。

### 3.3.4 ケモメトリックスによる解析

定量した 22 元素の内、Al と Pb はネギの外側に局在していることと、汚染による影響が大きいことから、<sup>25)</sup> これらの元素を除いた 20 元素についての結果を用いて統計解析を行った。無機元素濃度のデータから食品などの原産地を推定するための統計手法としては、多変量データを用いることから多変量解析がよく用いられる。また、今回のケースのように化学分析により得られる化学情報から、数学的あるいは統計的に各産地の元素濃度のパターンを分類したりあるいは回帰分析をするような手法として「ケモメトリックス」と呼ばれる手法もある。産地判別で用いられる多変量解析の例として、主成分分析、クラスター分析、判別分析などがある。これらは全てケモメトリックス手法でもあるが、ケモメトリックスではこの外に KNN（K-nearest neighbor）、SIMCA（soft independent modeling of class analogy）、ANN（artificial neural networks）などの手法も用いられる<sup>26)</sup>。今回のケースでは、既に産地の分かっている試料についてのデータを用いてモデルを作成し、そのモデルを用いて未知試料を判別する方法が適していると考えられる。このような方法は「教師有りのパターン認識（分類）」<sup>27)</sup> と呼ばれ、判別分析、KNN、SIMCA、ANN

などの手法がそれに属する。この内、判別分析と SIMCA は統計分布を仮定した手法であり、判別したい各試料群のデータのパターンが、それぞれ特定の統計的な分布をしていなくてはならず、また多くのデータを必要とするという面で使いにくい部分がある。その代わりに、どの元素が判別に寄与しているかや、対象としている各グループにどれだけ近いか、と言った多くの統計データが得られるという面で優れている。産地判別の研究では統計的な裏づけのある判別分析と SIMCA が良く用いられる。本研究でもケモメトリックス手法として、判別分析の 1 つである線型判別分析 (LDA) と SIMCA を用い、判別を行った。

LDA ではステップワイズ帰帰により判別に有効な元素を選択し、それらの元素を用いた判別に有効な線型判別関数をモデリングする。この関数に各元素の濃度を代入することにより得られる値から、試料がどのグループに属するかを判別する。20 元素全てを用いた線型判別関数をモデリングすることも可能であるが、試料数が十分に無い場合には不安定なモデルとなる。つまり、モデリングに使用した試料については明確に分けられても、そうでない試料について予測を行った場合、判別の適中率が大きく下がるような事が起きる。元素数は少ない方が安定したモデルとなるが、多い方がモデリングに使用した試料についてはうまく分類できる。これらの兼ね合いを見て元素数を判断することになる。その判断方法の 1 つとして、モデリングに使用しない試料について予測を行い、その適中率からモデルの有効性を見る方法がある。今回は 25 本分のネギを用いて調製した試料 1 の 101 検体の試料の分析結果を用いてモデリングし、ネギ 1 本で調製した 102 試料の予測を行うことでモデルの有効性を確認した。LDA のモデルとして、国産と中国産との 2 群判別と、国産、中国の山東省産、上海市産、福建省産の 4 群判別の 2 種類モデルを作成し、判別を行った。

SIMCA では対象となる各グループについて主成分分析を行い、グループの数だけ主成分モデルを作る。次に、各モデルに判別したい試料を適用し、モデルからの距離を比較することにより判別する。通常 SIMCA では、どちらのグループからも遠い試料はどちらにも属さないアウトライヤーとして分類するが、今回の試料は全て国産か中国産であるため、通常ではアウトライヤーとされる試料も、いずれかのグループに分類される統計的確立の高い方のグループに試料を分類した。また、今回は 20 元素全ての分析データを用いてモデリングしたが、SIMCA では用いる元素数が多くても LDA のように不安定なモデルにはならないが、主成分数によってモデルの形が変わる。本研究で使用したソフトウェアでは最適な主成分数が自動的に計算され、モデリングされるので、得られたモデルを用いて予測を行った。ただし、SIMCA のモデルでは LDA のモデルよりも複雑なモデルであるため、より多くの情報を必要とする。LDA では国産 65 検体、中国産 36 検体の試料についての分析データを用いてモデリングしたが、SIMCA では中国産のモデルが不十分なものになってしまう。そこで、25 本分の国産ネギを用いて調製した試料 1-1 から 55 試

表 3 試料 1-1 と 1-2 に含まれる Na,P, K, Ca, Mn, Co, Zn, Sr, Cd, Cs, Ba, Ce, Tl 濃度を用いて作成された 2 群の線型判別関数による 203 ネギ試料の分類と予測

No.	原産国名	分類適中率	
			平均
1-1	日本	97% (63/65)	96%
1-2	中国	94% (34/36)	
予測適中率			
2-1	日本	93% (13/14)	95%
2-2	中国	96% (24/25)	
		表示国名	表示との一致率
3-1		日本	77% (17/22)
3-2		中国	93% (38/41)

料, ネギ 1 本を用いて調製した試料 1-2 の山東省産, 上海市産, 福建省産からそれぞれ 9, 5, 4 試料, 店頭で買い上げた中国産ネギ 1 本分を用いて調製した試料 3-2 から 28 試料の計 101 試料を任意に選択し, そのデータを用いてモデリングした。

### 3.4 結果と考察

#### 3.4.1 国産と中国産との間の LDA

試料 1 についての分析結果を用いて国産と中国産との間の 2 群の LDA を行った。ステップワイズ回帰により選択された Na,P, K, Ca, Co, Cu, Zn, Sr, Cd, Cs, Ba, Ce, Tl の 13 元素による LDA の結果を表 3 に示す。試料 1 についての分類適中率は 96%, 試料 2 についての予測適中率は 95%, 試料 3-2 については 93%となった。試料 2 と 3-2 の予測適中率も十分に高いことから, 良好なモデルが作成されたと考えられる。産地の確かなネギである試料 1, 2, 3-2 についての判別適中率は 95%となった。試料 3-1 の国産表示ネギについては 77%と低い表示との一致率となった。

#### 3.4.2 国産と中国の山東省産, 上海市産, 福建省産との間の LDA

輸入ネギの主産地である中国の山東省, 上海市, 福建省は地理的に離れている。従って, 中国産と国産の 2 群についてモデリングするよりも, 国産と中国産の 3 地域の 4 群についてモデリングした方が適切なモデルが作成できると考え, 上記 4 地域の中の 4 群の LDA を行った。ステップワイズ回帰により選択された Na, P, K, Ca, Co, Cu, Zn, Sr, Cd, Cs, Ba, Ce, Tl の 13 元素による LDA の結果を表 4 に示す。国産か中国産かの 2 群の判別では, 試料 1 についての分類適中率は 97%, 試料 2 についての予測適中率は 86%, 試料 3-2 については 90%となった。モデリングで使用し

表 4 試料 1-1 と 1-2 に含まれる Na,P, K, Ca, Co,Cu, Zn, Sr, Cd, Cs, Ba, Ce, Tl 濃度を用いて作成した4群の線型判別関数による203ネギ試料の分類と予測

No.	原産地名	分類適中率		
		2 群判別	4 群判別	平均
1-1	日本	98% (64/65)	98%	97% <sup>1)</sup>
1-2	中国	94% (34/36)		
	山東省		94% (17/18)	97% <sup>2)</sup>
	上海市		90% (9/10)	
	福建省		100% (8/8)	
			予測適中率	
2-1	日本	86% (12/14)	86%	87% <sup>1)</sup>
2-2	中国	88% (22/25)		
	山東省		88% (7/8)	79% <sup>2)</sup>
	上海市		78% (7/9)	
	福建省		63% (5/8)	
	表示国名	表示との一致率		
3-1	日本	86% (19/22)		
3-2	中国	90% (37/41)		

1) 国産と中国産との間の 2 群の判別による判別適中率

2) 国産と中国の山東省産，上海市産，福建省産との間の 4 群の判別による判別適中率

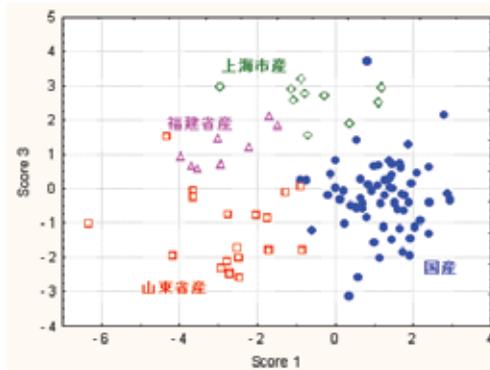


図 4 確かな国産 65 検体，中国産 36 検体に対する，Na，P，K，Ca，Co，Cu，Zn，Sr，Cd，Cs，Ba，Ce，Tl 濃度を用いた線型判別関数のスコア 1 vs. 3 のプロット

た試料 1 についての分類適中率は良好だったが、ネギ 1 本についての予測適中率ではやや低くなり、不安定なモデルとなった。産地の確かなネギである試料 1, 2, 3-2 についての判別適中率は 93% となり、試料 3-1 の国産表示ネギのついては 86% となった。

国産と中国産の 3 地域の間での 4 群の判別では、試料 1 についての分類適中率は 2 群の判別と同じ 97% と高い適中率になったが、試料 2 についての予測適中率は 79% とやや低くなった。しかし、中国の 3 地域の間でも元素組成に異なった傾向のある事が示された。試料 1 についての線型判別関数のスコアを図 4 に示す。各産地間で分布が分かれており、特に福建省産が他から大きく分かれる分布を示している。

### 3.4.3 国産と中国産との間の SIMCA

SIMCA では判別分析と同じ試料についてのデータを用いてモデリングしても良好なモデルができないため、国産ネギである試料 1-1 から 55 試料、中国産ネギである試料 1-2 と 3-2 から 46 試料を任意に選択してモデリング用試料とした SIMCA による予測結果を表 5 に示す。試料 1 についての予測適中率は 97%、試料 2 については 90%、試料 3-2 については 98% となった。産地の確かなネギである試料 1, 2, 3-2 についての予測適中率は 95% となった。LDA と同程度の判別適中率となり、良好なモデルが作成されたと考えられる。試料 3-1 の国産表示ネギのついては 82% とやや低い表示との一致率となった。

表 5 試料 1-1, 1-2, 3-3 から任意に選択された 101 試料に含まれる 20 元素濃度を用いて作成されたされた SIMCA モデルによる 203 ネギ試料の予測<sup>1)</sup>

No.	原産国名	予測適中率	平均
1-1	日本	95% (62/65)	96%
1-2	中国	97% (35/36)	
2-1	日本	93% (13/14)	90%
2-2	中国	88% (22/25)	
	表示国名	表示との一致率	
3-1	日本	82% (18/22)	
3-2	中国	98% (40/41)	

1) 試料 1-1 から 55 試料、試料 1-2 の山東省産、上海市産、福建省産からそれぞれ 9, 5, 4 試料、試料 3-2 から 28 試料を任意に選択。

### 3.4.4 LDA と SIMCA を組み合わせた判別

LDA と SIMCA 共に 95%程度と良好な判別適中率になった。従って、どちらの手法を用いてもネギの原産国をスクリーニング判別することが可能であろう。どちらの手法も数学的に全く異なったモデルを構築して判別しているため、両方の手法を組み合わせた判別は、結果をダブルチェックして判別する有効な手法になると考えられる。特に、国産ネギを中国産と判別するような、好ましくない誤りを少なくすることができる。そこで、今回モデリングした国産と中国産との間の 2 群の LDA と SIMCA の判別結果について、両方の手法を組み合わせた判別を行った。国産か中国産かの判定基準として、両方の手法で中国産と判別された場合にその試料を中国産と判定し、少なくともどちらか 1 つの手法で国産と判別された場合には中国産ではないと判定することとした。結果として、国産を中国産と誤って判定されたのは国産の 79 試料中、試料 1-1 の中の 1 試料のみであった。中国産を国産と誤って判定したのは試料 1-2 の中の 3 試料、試料 2-2 の中の 3 試料、試料 3-2 の中の 3 試料となり、合計で 102 試料中 9 試料となった。国産を中国産と判定する第 1 種の誤りが 1%、中国産を中国産ではないと判定する第 2 種の誤りが 9%という結果になった。また、店頭で買い上げた国産ネギ試料 2-1 について中国産と判定されたものは 25 試料中 1 試料あった。従って、この試料については表示が間違っている可能性のあることが示唆された。

無機元素組成による産地の判別では、データの蓄積が多い程信頼性の高い判別を行うことができる。今後は、さらにデータを蓄積して信頼性の高い判別手法にして行く予定である。また、ネギは生鮮野菜であるため、迅速に判別することが求められる。今回紹介した方法では結果が出るまで 3 日かかるが、最終的には 2 日以内でネギの原産国をスクリーニング判別できる手法にする予定である。

## 4. おわりに

以上紹介してきたように、DNA による品種判別では正確に品種を特定する事は可能であるが産地を特定する事はできず、原産地の判別を行うには無機成分による手法が現在最も有効な手法であろう。現在、独立行政法人・農業環境技術研究所と東京工業大学のグループが行っている  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  と鉛同位体比によるネギの産地判別の研究において、各産地のネギの  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  の分析が行われている。ネギ栽培ほ場と他の農産物のほ場との間でどの程度同位体比に差が出るのか確認する必要があるが、こうした分析データを蓄積することで、知りたい産地の農産物中の  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  をある程度見積もることができると思われる。そして目的としている産地間で有意な差が認められれば、様々な農産物の産地判別に適用できる可能性がある。しかしストロンチウムにしても鉛にしても、同位体比の差は日本と外国との間でもわずかであり（一部重なりも予想される）、国内での差はさらに小さい。いくつかの同位体比と組み合わせることで、より正確に産地を特定できるようになると期待される

が、まだまだこの分野の研究は始まったばかりであり、さらなる調査・研究・確認が必要である。このように、産地判別手法としては重元素同位体比による手法の進展が今後期待されるが、現段階では無機元素組成による手法がより迅速に対応でき、取組みやすいという利点がある。今後、この手法が様々な食品について適用され、多くのデータが蓄積されることにより、食品の産地判別手法として実用化されるようになることを期待する。

(食品総合研究所 分析科学部分析研究室 有山 薫)

## 文 献

- 1) 大坪研一, 中村澄子, 今村太郎, 米の PCR 品種判別におけるコシヒカリ用判別プライマーセットの開発, 農芸化学誌, 76, 388-397, (2002).
- 2) 大坪研一, 米および米飯の DNA 品種判別, 食品工業, 45(16), 40-46, (2002).
- 3) 若尾卓成, 疋田雄一, 常吉俊宏, 梶真壽, 久保田裕明, 久保田隆之, PCR-制限断片多型を用いたウナギ種簡易 DNA 鑑定, 日本水産学会誌, 65(3), 391-399, (1999).
- 4) Martin, G. J., Guillou, C., Martin, M. L., Cabanis, M. T., Tep, Y., Aerny, J., Natural Factors of Isotope Fractionation and the Characterization of Wines. *J. Agric. Food Chem.*, 36, 316-322 (1988).
- 5) Day, M. P., Zhang, B., Martin, G. J., Determination of the Geographical Origin of Wine Using Joint Analysis of Elemental and Isotope Composition. II-Differentiation of the Principal Production Zones in France for the 1990 Vintage. *J. Sci. Food Agric.*, 67, 113-123 (1995).
- 6) Etiént, P., Schlich, P., Varietal and Geographic Classification of French Red Wines in Terms of Elements, Amino Acids and Aromatic Alcohols. *J. Sci. Food Agric.*, 45, 25-41 (1988).
- 7) Latorre, M. J., Garía-Jares, C., Mèdina, B., Herrero, C., Pattern Recognition Analysis Applied to Classification of Wines from Galicia (Northwestern Spain) with Certified Brand of Origin. *J. Agric. Food Chem.*, 42, 1452-1455 (1994).
- 8) Košir, I. J., Kojančič, M., Nives Ogrinc, J. Kidrič, Use of SNF-NMR and IRMS in combination with chemometric methods for the determination of chaptalisation and geographical origin of wines (the examples of Slovenian wines). *Anal. Chim. Acta*, 429, 195-206 (2001).
- 9) Brescia, M. A., Caldarella, V., Giglio, A. D., Benedetti, D. Fanizzi, F. P., A. Sacco, Characterization of the geographical origin of Italian red wines based on traditional

- and nuclear magnetic resonance spectrometric determinations. *Anal. Chim. Acta*, 458, 177-186 (2002).
- 10) Wisers, M. E., Iyer, S. S., Krouse, H. R., Cantagallo, M. I., Variation in boron isotope composition of *Coffea arabica* beans. *Appl. Geochem.*, 16, 317 (2001).
  - 11) Anderson, K. A., Smith, B. W., Chemical Profiling To Differentiate Geographic Growing Origins of Coffee. *J. Agric. Food Chem.*, 50, 2068-2075 (2002).
  - 12) Marcos, A., Fisher, A., Rea, G., Hill, S. J., Preliminary study using trace element concentrations and a chemometrics approach to determine the geographical origin of tea. *J. Anal. At. Spectrom.*, 13, 521-525 (1998).
  - 13) Fernández-Cáceres, P. L., Martín, M. J., Pablos, F., González, A. G., Differentiation of Tea (*Camellia sinensis*) Varieties and Their Geographical Origin According to their Metal Content. *J. Agric. Food Chem.*, 49, 4775-4779 (2002).
  - 14) Mouly, P. P., Gaydou, E. M., Lapierre, L., Corsetti, J., Differentiation of Several Geographical Origins in Single-Strength Valencia Orange Juices Using Quantitative Comparison of Carotenoid Profiles. *J. Agric. Food Chem.*, 47, 4038-4045 (1999).
  - 15) Angerosa, F., Bréas, O., Contento, S., Guillou, C., Reniero, F., Sada, E., Application of Stable Isotope Ratio Analysis to the Characterization of the Geographical Origin of Olive Oils. *J. Agric. Food Chem.*, 47, 1013-1017 (1999).
  - 16) Anderson, K. A., Magnuson, B. A., Tschirgi, M. L., Smith, B., Determination the Geographic Origin of Potatoes with Trace Metal Analysis Using Statistical and Neural Network Classifiers. *J. Agric. Food Chem.*, 47, 1568-1575 (1999).
  - 17) 安井明美, 進藤久美子, 玄米中の無機元素組成による産地判別, 分析化学, 49, 6, 405-410, (2000).
  - 18) Oda, H., Kawasaki, A., Hirata, T., Determination of the Geographic Origin of Brown-Rice with Isotope Ratios of  $^{11}\text{B}/^{12}\text{B}$  and  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ . *Anal. Sci.*, 17, 1627-1630 (2001).
  - 19) Hernandez, B., Castellote, A. I., Permyner, J. J., Triglyceride Analysis of Cocoa Beans from Different Geographical Origins. *Food Chemistry*, 41, 269-276 (1991).
  - 20) Armanino, C., Acutis, R. D., Festa, M. R., Wheat Lipids to discriminant species, varieties, geographical origins and crop years. *Anal. Chim. Acta*, 454, 315-326 (2002).
  - 21) McDonald, M. S., Hughes, M., Burns, J., Lean, M. E. J., Matthews, D., A. Crozier, Survey of the Free and Conjugated Myricetin and Quercetin Content of Red Wines of Different Geographical Origins. *J. Agric. Food Chem.*, 46, 368-375 (1998).
  - 22) Sanz, S., Perez, C., Herrera, A., Sanz, M., Juan, T., Application of a Statistical Approach to the Classification of Honey by Geographic Origin. *J. Sci. Food Agric.*, 69, 135-140 (1995).

- 23 ) Simpkins, W. A., Louie, H., Wu, M., Harrison, M., Goldberg, D., Trace elements in Australian orange juice and other products. *Food Chemistry*, 71, 423-433 (2000).
- 24 ) Ehleringr, J. R., Casale, J. F., Lott, M. J., Ford, V. L., Tracing the geographical origin of cocaine. *Nature*, 408, 311-312 (2000).
- 25 ) 有山薫, 堀田博, 安井明美, ネギの産地判別のための無機元素測定法の確立と予備的検討, *分析化学*, 52, 11, 969-978 (2003).
- 26 ) 宮下芳勝, 佐々木愼一, ケモメトリックス 化学パターン認識と多変量解析, (共立出版, 東京), pp. 79-107 (1995).
- 27 ) 相島鐵郎, ケモメトリックス, (丸善, 東京), pp. 89-102 (1992).