

無機元素組成による黒大豆「丹波黒」の一粒産地判別

法邑雄司[§], 鈴木忠直*, 小阪英樹**, 堀田 博*, 安井明美*

独立行政法人農林水産消費技術センター

* 独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所

** フジッコ株式会社

Determination the Geographic Origin of One Grain of Black Soybean "Tanbaguro" by Using Inorganic Elements Composition

Yuji Homura[§], Tadanao Suzuki*, Hideki Kosaka**, Hiroshi Horita* and Akemi Yasui*Center for Food Quality, Labeling and Consumer Services, 2-1, Shintoshin,
Chuo-ku, Saitama-City, Saitama 330-9731

* National Food Research Institute, 2-1-12, Kannon-dai, Tukuba, Ibaraki 305-8642

** Fujicco Co., Ltd., 6-13-4 Minatojimanakamachi, Chuo-ku, Kobe 650-8558

Models for determining country of origin of one grain of black *Tanbaguro* soybean using inorganic element composition and linear discriminant analysis (LDA) were proposed and assessed for applicability.

Test samples consisting of 66 *Tanbaguro* varieties were collected from Japan and China. Approximately 100 grains of each type was ground to powder. Test samples of approximately 0.5 g were digested with nitric acid using microwave digester and 24 elements in the sample were determined by ICP-AES and ICP-MS. An LDA model for six of 24 elements (Ba, Ca, Mn, Nd, W, Ni) selected by backward stepwise regression could be used to correctly identify the country of production (Japan or China) of all 66 samples.

Ratios of inorganic element concentrations to potassium concentrations in samples were introduced to simplify pre-treatment. An LDA model using concentration ratios of the six elements (Ba, Ca, Mn, Nd, W, Ni) to potassium could be used to identify two countries.

The ratios of the six elements : K in one grain from each of the 97 samples (the 65 samples used to construct the LDA model and the 32 samples collected to validate the model) were analyzed in the same way and 97 samples were correctly classified to levels of approximately 84%. In addition, 97 samples were classified approximately 94% correctly using the LDA model with the ratios of the concentrations of three elements (Cd, Cs, V) selected from 15 elements (determined by ICP-MS) to that of potassium.

(Received Jun. 14, 2006 ; Accepted Sep. 15, 2006)

JAS法において、一般消費者の選択に資するため、生鮮食品の産地表示が義務付けられて5年が経過するが、輸入品を高価な日本産へと偽装するケースが後を絶たない。特に、ブランドとして名声の高い産地への偽装は、消費者だけでなく、生産者の不利益も大きい。

農作物においては、日本の種子が中国に持ち出されて現地で生産され、日本に輸入されるケースが多く、外見では原産国の区別が付かず、産地偽装を助長させる一因ともなっている。黒大豆の品種の一つである丹波黒も、特に丹波地方で生産されたものはブランドとして名声が高く、日本から持ち出された種子により栽培された中国産が日本国

内へ輸入されており、産地偽装が懸念されている。

産地表示制度を機能させ、産地偽装を防止するには、表示が適正に行われているか、行政機関等による調査が必要となるが、全国に多数ある店舗や業者に対して、産地表示の根拠となる伝票等の書類のチェックを行わなければならない。膨大な人手と労力を要する。こうした中、理化学検査により産地を判別する手法が開発され、検査結果から産地表示に疑義のある対象のみに調査を絞り込むことで、書類チェックを効率的に行うことができ、また、産地偽装の抑止力としても役立つことが期待されている。

理化学検査の手法として、主に、DNA検査による品種判別と、土壌などの影響を受ける化学成分の産地間の差異を利用した判別があげられる。DNA検査による品種判別は、種苗法の育成者権侵害の立証に主に使われるが¹⁾²⁾、産地判別においても、栽培地により栽培品種が異なる場合

〒330-9731 埼玉県さいたま市中央区新都心 2-1

* 〒305-8642 茨城県つくば市観音台 2-1-12

** 〒650-8558 神戸市中央区港島中町 6-13-4

§ 連絡先 (Corresponding author), yhomura@affrc.go.jp

に、品種を特定することで産地を判別することができる。しかし、確実に品種を識別できる反面、日本国内から種子が持ち出されているケースでは、日本産、外国産ともに同じ品種が流通する結果となり、産地判別への応用は不可能である。

その一方で、化学成分の差異を利用した判別において、無機元素は、化学変化などが起こらないため、安定した指標となる。ある作物について、各産地の無機元素組成データを蓄積し、統計的手法により判別技術を構築する。また、前述のように異なる原産地で同一品種の農作物が流通する場合に特に有効である。現在、産地による無機元素組成の差異を用いた産地判別法が、玄米³⁾、ネギ^{4)~6)}、梅干⁷⁾、乾しいたけ⁸⁾、じゃがいも⁹⁾などで開発されている。

筆者らは、15 点の丹波黒について、誘導結合プラズマ質量分析法（以下 ICP-MS 法）により 9 元素測定したところ、国産、中国産間で、Al, Ni, Cu, Sr, Ba, Rb, Cs 濃度に有意差が見られ、無機元素組成が産地判別指標となることを示唆した¹⁰⁾。また、小阪らは、丹波黒 28 点に含まれる 8 元素のデータから、線型判別モデルを構築し、別に用意した丹波黒 20 点の判別を行い、9 割以上を正しく判別した¹¹⁾。本研究では、さらに、丹波黒の試料数を増やし、ICP-MS 法に加え誘導結合プラズマ発光分析法（以下 ICP-AES 法）により、24 元素を測定し、線形判別分析により、判別技術の確立を図った。

また、丹波黒は、粒で流通するため、中国産 100% を国産と偽装する場合だけでなく、二つの産地の黒大豆を混合し、国産 100% と表示をする場合も想定される。そこで、確立した判別モデルを用い、一粒から産地判別が可能か検証を行った。その際、有山ら⁶⁾がネギの判別において提案した元素濃度比を変数として用いることで、粉碎、乾燥を省略し、前処理の簡便化を図った。

実験方法

1. 試料

本研究では、判別モデルを構築するための試料と、構築した判別モデルによる一粒判別の可能性を検証するための試料を収集した。また、分析法の黒大豆への適用性を判断するために行う標準添加回収試験に用いる試料を別途収集した。

(1) 判別モデル構築用試料

表 1 に示すように、産地、産年に偏りがないように、国産は、岡山県、兵庫県、京都府、滋賀県産計 45 点、中国産は、江蘇省、安徽省、四川省、河北省産計 21 点計 66 点を収集した。産年は、平成 9 年から平成 15 年である。

(2) 一粒判別検証用試料

また、兵庫県産 1 点を除く判別モデル構築用試料 (1)、及び表 1 に示す検証用に新たに収集した平成 15-17 年産丹波黒から、それぞれランダムに一粒ずつ抜き出したもの (2-

1) 65 点、(2-2) 32 点を一粒判別検証用試料とした。

2. 無機元素分析

(1) 試薬

試料の分解には、61% 高純度電子工業用硝酸（関東化学製）、38% フッ化水素酸（多摩化学工業製）を使用した。ICP-AES 法による定量に用いた検量線用標準溶液は、単元素標準溶液 Ba, Ca, Fe, K, Mg, Mn, P, Sr, Zn（関東化学製）を混合希釈して調製した。ICP-MS 法による定量に用いた検量線用標準溶液は、混合認証標準溶液 XSTC-1, XSTC-8, XSTC-331（SPEX 製）を混合希釈し、単元素標準溶液 In（関東化学製）を内標準元素として添加した。

なお、試料の希釈には、Super-Q システム（日本ミリポア製）により製造した水を用いた。

(2) 試料の調製

判別モデル構築用の試料 (1) は、各試料のロット全体の平均濃度を反映するように、約 100 粒をセラミックカッター（ビュッヒ製 B-400）により粉碎し、恒温乾燥器（EYLEA 製 WFO-600ND）により、80°C で 12 時間以上乾燥させ、粉末試料とした。

標準添加回収試験に用いる試料の調製では、添加後の元素濃度が、主要元素では添加前の数 10 パーセント増、微量元素では数倍となるように、前述の単元素標準溶液及び混合認証標準溶液を適宜希釈し、秤量後の試料に添加した。

なお、一粒判別検証用試料 (2-1)、(2-2) は、粉碎、乾燥の試料調製を行わなかった。

(3) 試料溶液の調製

精ひょうした試料約 0.5 g（一粒判別検証用試料 (2-1)、(2-2) は一粒）をテフロン製の分解容器に入れ、硝酸 10 mL、フッ化水素酸 1 mL を添加し、ふたをして室温で 30 分程度放置し予備分解を行った後、分解容器をマイクロ波試料分解装置（マイルストーン製 ETHOS PLUS）に取り付け、加熱プログラム（80°C まで昇温（5 分）、80°C を保持（10 分）、150°C まで昇温（5 分）、150°C を保持（10 分）、200°C まで昇温（3 分）、200°C を保持（17 分））による分解を行った。分解容器を 30 分間水冷後、分解液を耐熱性テフロンビーカーへ移し、ホットプレート上で分解液を蒸発させた。蒸発乾固後に数 mL の 1% 硝酸を加えることにより、蒸発乾固を 3 回繰り返す、フッ化水素酸を完全に除去した。ビーカー内の残留物を 1% 硝酸により溶解し、100 mL 容ポリプロピレン製全量フラスコへ定容し、分析用試料溶液とした。

さらに、上記分析法と同様に空試験を行って、分析における試薬や環境からの汚染を評価した。

(4) ICP-AES 及び ICP-MS による測定

ICP-AES 及び ICP-MS による測定には、それぞれバリアン製 Vista Pro 及びサーモエレクトロン製 ELEMENT2 を用いた。測定条件、測定元素、検出限界等を表 2 に示した。ICP-AES では 9 元素、ICP-MS では 15 元素を測定し

た。ICP-AES 検量線用標準溶液は、マトリックスマッチング法により、調製した試料溶液と酸濃度、主要元素組成が類似するように単元素標準溶液を混合希釈して調製した。ICP-MS 検量線用標準溶液は、認証混合標準溶液を1%硝

酸により混合希釈した。また、ICP-MS による測定において、Kなどの主要元素によるマトリックス干渉を補正するため、Inを内標準元素として、添加後の濃度が100 ng/mLとなるように、検量線用標準溶液及び試料溶液に添加し

表 1 分析試料一覧

No.	産地	産年	No.	産地	産年
試料 (1) (判別モデル構築用試料)			50	中国江蘇省	14
試料 (2-1) (一粒判別検証用試料)			51	中国江蘇省	14
1	兵庫県*		52	中国江蘇省	
2	兵庫県和田山町	13	53	中国江蘇省	
3	兵庫県和田山町		54	中国江蘇省	
4	兵庫県篠山市	13	55	中国江蘇省	
5	兵庫県篠山市	13	56	中国江蘇省高郵	
6	兵庫県篠山市	13	57	中国江蘇省塩城	
7	兵庫県篠山市	13	58	中国安徽省	13
8	兵庫県篠山市	13	59	中国安徽省	14
9	兵庫県篠山市	14	60	中国安徽省	
10	兵庫県篠山市		61	中国安徽省	
11	兵庫県篠山市	11	62	中国安徽省	
12	兵庫県篠山市	13	63	中国安徽省合肥	
13	兵庫県篠山市	13	64	中国四川省成都	
14	兵庫県篠山市	13	65	中国四川省	13
15	兵庫県篠山市	13	66	中国河北省	14
16	兵庫県穴栗市	14	試料 (2-2) (一粒判別検証用試料)		
17	兵庫県穴栗市	13	1	兵庫県	16
18	兵庫県朝来市	14	2	兵庫県	16
19	兵庫県朝来市		3	兵庫県	17
20	兵庫県朝来市	13	4	兵庫県	
21	岡山県	13	5	兵庫県和田山町	16
22	岡山県美作町	15	6	兵庫県篠山市	17
23	岡山県美作町	13	7	兵庫県篠山市	17
24	岡山県美作市	14	8	兵庫県穴栗市	17
25	岡山県美作市	13	9	兵庫県	
26	岡山県吉備中央町	14	10	岡山県	16
27	岡山県吉備中央町	13	11	岡山県	16
28	岡山県赤穂市	14	12	岡山県	17
29	岡山県赤穂市	15	13	岡山県	17
30	岡山県赤穂市	15	14	岡山県赤穂市	16
31	岡山県赤穂市	15	15	京都府	16
32	岡山県鏡野町	9	16	京都府	17
33	京都府	9	17	滋賀	16
34	京都府	10	18	中国	15
35	京都府		19	中国	15
36	京都府八木町	13	20	中国	15
37	京都府園部町	14	21	中国	15
38	京都府和知町	13	22	中国	16
39	京都府京丹後市	14	23	中国	
40	京都府京丹後市	13	24	中国	
41	京都府綾部町		25	中国	
42	京都府夜久野町	14	26	中国	
43	京都府亀岡市		27	中国	
44	滋賀県	14	28	中国	
45	千葉県		29	中国	
46	中国	13	30	中国江蘇省高郵	15
47	中国	15	31	中国安徽省	16
48	中国		32	中国雲南省	
49	中国江蘇省	13			

* 試料 (1) (判別モデル構築用試料) のみに用いた。

表 2 ICP-AES, ICP-MS 測定条件

ICP-MS		Thermo Element2		ICP-AES		Varian Vista Pro	
プラズマ条件				プラズマ条件			
RF パワー		1.2 kW		RF パワー		1.2 kW	
プラズマガス流量		16 L/min		プラズマガス流量		15 L/min	
補助ガス流量		0.8 L/min		補助ガス流量		1.5 L/min	
ネブライザーガス		1.1 L/min		ネブライザーガス		0.75 L/min	
サンプリング位置		3.4 mm					
測定元素		測定質量数 (-)	検出限界値 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	測定元素		測定波長 (nm)	検出限界値 (mg/kg)
分解能 500				Ba		493.408	0.02
Cu		63	300	Ca		317.933	30
Cd		111	3	Fe		238.204	3
Cs		133	2	K		766.491	6
La		139	3	Mg		285.213	10
Ce		140	7	Mn		257.610	0.05
Nd		146	3	P		213.618	2
Sm		152	2	Sr		407.771	0.2
Gd		158	0.9	Zn		213.857	0.2
W		184	2				
分解能 3000							
Al		27	2000				
V		51	7				
Co		59	3				
Ni		60	200				
Rb		85	8				
Mo		98	20				

た。

なお、測定値は、判別モデル構築用試料(1)については、乾重量あたりの各元素濃度 (mg/kg) 及び試料溶液の各元素濃度と K 濃度との比を、一粒判別検証用試料(2-1)、(2-2)については、試料溶液の各元素濃度と K 濃度との比を算出し、統計解析に用いた。また、定量限界未満であるが検出限界以上の分析値も、定量値として統計処理に用いた。

3. 統計解析

基本的な統計処理及び線形判別分析は、統計解析ソフト(スタットソフト製 Statistica 03J Pro)により行った。

実験結果および考察

1. 標準添加回収試験

表 3 に、乾重量あたりの添加前、添加後の試料濃度、添加濃度及び回収率を示した。回収率は、91% から 115% を示し、本分析法は、黒大豆への適用が妥当と判断した。

2. 定量結果

判別モデル構築用に用いた粉碎試料、一粒判別に用いた一粒大豆ともに、分解後、未分解物は残らなかった。

表 4 に、判別モデル構築用試料(1)について、全体、国産及び中国産試料の各元素の平均濃度、標準偏差、相対標準偏差を示した。Ba, Mg, Mn, Zn, Sm を除く 19 元素濃度で、1% の水準で国産と中国産の間に有意差があり、筆者¹⁰⁾や小阪ら¹¹⁾が、有意差があり産地判別指標となりうる

と示唆した元素の他に、新たに 12 元素で有意差があった。Ba は、既報¹⁰⁾では国産と中国産の間に 1% の水準で有意差があったが、今回は有意差が認められなかった。対象とした試料の産年や試料数の違いが原因であるが、本報の方が、既報より、試料の産年の幅が広く、また、試料数が多いため、判別の対象とする母集団を反映していると考えられる。また、全体的に中国産の方が国産より、平均元素濃度が高い傾向にあり、特に、Cs, La, Ce, Nd, Gd, V の微量元素では、2 倍以上、Al, Ni, Rb では 2 倍程度であった。逆に、国産の方が中国産より有意に高濃度の元素は、K, P, Cd, W, Mo で、Cd, Mo は中国産の 2 倍程度、K, P においては、1.03, 1.16 倍であった。このように、国産、中国産で差のある元素が多いが、単元素の濃度だけでは、国産、中国産が完全に分離せず、統計解析による判別モデルの構築が必要となった。

また、全試料の K 含量の相対標準偏差が約 3.3% であり、24 元素の中で最も小さかった。さらに、標準添加回収試験において、ICP-AES による K の測定濃度の相対標準偏差が約 2% と精度よく定量できたことから、濃度比を求める際の基準の元素とした。

また、判別モデル構築用試料(1) 65 点、及び試料(1)のそれぞれの試料から一粒ずつ取り出した一粒判別検証用試料(2-1)について、各元素の K との濃度比の平均値、標準偏差、相対標準偏差を表 5 に示した。

表 3 標準添加回収試験結果

元素	添加前濃度	添加濃度	添加後濃度	回収率
	(g/kg)	(g/kg)	(g/kg)	
Ba	0.00357±0.00015	0.02	0.0238±0.0015	103
Ca	1.45±0.04	2	3.40±0.10	100
Fe	0.089±0.001	0.02	0.107±0.002	91
K	19.8±0.4	2.5	22.1±0.4	93
Mg	2.26±0.03	2	4.18±0.15	98
Mn	0.0266±0.0009	0.02	0.0460±0.0010	99
P	6.68±0.11	2	8.63±0.12	99
Sr	0.0038±0.0001	0.02	0.0245±0.0016	106
Zn	0.0510±0.0010	0.02	0.0709±0.0010	102
	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	(%)
Cu	18.2±2.2	20	36.3±3.9	92
Cd	0.151±0.007	20	18.3±1.5	92
Cs	0.044±0.002	20	19.9±1.7	101
La	0.007±0.002	0.2	0.207±0.017	102
Ce	0.009±0.002	0.2	0.207±0.016	101
Nd	0.004±0.002	0.2	0.209±0.019	105
Sm	0.005±0.002	0.2	0.226±0.019	113
Gd	0.0018±0.0018	0.2	0.205±0.019	104
W	0.015±0.015	4	4.23±0.39	108
Al	6±1	20	26±2	102
V	0.005±0.003	20	21.1±1.9	108
Co	0.107±0.003	20	20.3±1.6	103
Ni	5.5±0.2	20	25.8±2.1	104
Rb	12.6±0.4	20	34.0±2.0	109
Mo	3.36±0.16	4	7.85±0.31	115

濃度は乾燥重量あたりの平均値±標準偏差 (n=5) で示した。

試料 (1) (粉碎試料) について、ICP-AES により測定する主要元素より、ICP-MS により測定する微量元素の方が、相対標準偏差は大きく、試料間の濃度比の変動が大きかった。また、試料 (2-1) (粒試料) では、試料間の変動に加え、粒による変動もあるため、全元素で試料 (1) よりも試料 (2-1) の標準偏差、相対標準偏差が大きかった。

また、粉碎試料と粒試料による変動の大きさを比較する一つの指標として、試料 (2-1) と試料 (1) の標準偏差の比をとった結果を表 5 に示す。ICP-AES 測定元素は 1.5 以上、ICP-MS 測定元素は 1.5 以下となり、ICP-MS 測定元素の方が、ICP-AES 測定元素と比較して、粉碎試料の変動と粒試料の変動との比が小さかった。ICP-MS 測定元素は、ICP-AES 測定元素と比較して、粉碎試料間の変動が大きいため、一粒判別において、粒による変動の影響を受ける可能性が少ないと考えられる。このことから、以下の考察において、ICP-MS による測定元素濃度と K 濃度との比のみを用いた判別モデルについても検討を行った。

3. 線形判別分析による判別モデルの構築

判別モデル構築用試料 (1) 66 点の定量結果 ((1) 乾重量あたりの各元素濃度, (2) 各元素濃度と K 濃度との比, (3) ICP-MS による測定元素濃度と K 濃度との比) について、

それぞれを変数とした線形判別分析を行うことにより、3 つの判別モデルの構築を行った。また、判別モデルに用いる元素を、より多くの元素の中から選択することによって分類正答率の向上を図ることができるため、国産及び中国産間に 1% の水準で有意差がない元素も含めた全元素の中から、後進ステップワイズ法を用い、判別に用いる元素を選択した。

(1) 乾重量あたりの各元素濃度を変数とした判別モデル
各試料の乾重量あたりの 24 元素濃度から後進ステップワイズ法により選択された 6 元素 Ba, Ca, Mn, Nd, W, Ni により、国産、中国産の 2 群を判別する線形判別関数を構築した (モデル A)。判別係数、分類率を表 6, 表 7 に示す。モデル A は、判別モデル構築用試料 (1) 66 点を全て正しく分類した。また、小阪ら¹¹⁾ が丹波黒 28 点に含まれる 8 元素のデータから構築した判別モデルでは分類適中率が 96% を示しており、24 元素に増加した測定データから後進ステップワイズ法により分類に寄与する元素を選択することで分類適中率が向上したと考えられる。

(2) 各元素濃度と K 濃度との比を変数とした判別モデル
各試料の K を除く 23 元素濃度と K 濃度との比から後進ステップワイズ法により選択された 6 元素 Ba, Ca, Mn,

表 4 モデル構築用試料定量結果 (全体, 日本産, 中国産)

	全体 (n=66)			日本産 (n=45)			中国産 (n=21)		
	平均濃度	標準偏差	相対標準偏差	平均濃度	標準偏差	相対標準偏差	平均濃度	標準偏差	相対標準偏差
	(g/kg)			(g/kg)			(g/kg)		
			(%)			(%)			(%)
Ba	0.00264	0.00142	54	0.00260	0.00159	61	0.00274	0.00098	36
Ca	1.55	0.31	20	1.40	0.25	18	1.87	0.13	7
Fe	0.085	0.005	6	0.084	0.005	6	0.087	0.003	4
K	20.4	0.7	3	20.6	0.7	3	20.0	0.4	2
Mg	2.37	0.10	4	2.37	0.11	4	2.37	0.07	3
Mn	0.0250	0.0034	13	0.0245	0.0034	14	0.0261	0.0031	12
P	6.95	0.64	9	7.27	0.40	5	6.27	0.50	8
Sr	0.0026	0.0012	46	0.0021	0.0008	38	0.0038	0.0011	28
Zn	0.0480	0.0045	9	0.0480	0.0053	11	0.0478	0.0016	3
	(mg/kg)			(mg/kg)			(mg/kg)		
			(%)			(%)			(%)
Cu	14.0	2.9	21	13.3	3.1	23	15.6	1.8	12
Cd	0.106	0.085	80	0.130	0.092	71	0.055	0.031	57
Cs	0.052	0.048	92	0.026	0.021	80	0.108	0.041	38
La	0.006	0.005	81	0.003	0.003	88	0.010	0.004	35
Ce	0.008	0.008	100	0.004	0.005	145	0.017	0.004	23
Nd	0.003	0.003	102	0.002	0.003	156	0.007	0.002	22
Sm	0.002	0.002	102	0.002	0.002	121	0.002	0.002	70
Gd	0.0009	0.0011	126	0.0006	0.0008	141	0.0015	0.0014	91
W	0.002	0.004	182	0.003	0.005	153	0.001	0.001	217
Al	8	5	56	6	3	52	13	3	25
V	0.012	0.009	73	0.008	0.006	81	0.021	0.006	27
Co	0.111	0.059	53	0.092	0.058	63	0.152	0.036	24
Ni	5.0	3.1	62	3.8	2.3	60	7.6	3.1	41
Rb	17.8	8.9	50	13.8	6.1	44	26.5	7.6	29
Mo	4.91	3.60	73	5.71	3.55	62	3.21	3.15	98

測定値は乾燥重量あたりで算出した。

Nd, W, Ni 濃度と K 濃度との比により, 国産, 中国産の 2 群を判別する線形判別関数を構築した (モデル B)。モデル A 同様, 試料 (1) 66 点を全て正しく分類した。

判別モデル構築において, 変数を, 乾重量あたりの元素濃度 (モデル A) 及び K との濃度比 (モデル B) にしたときのいずれも, モデル構築に用いた試料 (1) を, 全て正しく分類し, 判別モデルを構築することができた。また, K との濃度比を判別モデルの変数としても分類率を低下させず, 粉碎, 乾燥の前処理が省略可能であることが示唆された。

(3) ICP-MS 測定 of 15 元素の濃度と K 濃度との比を変数とした判別モデル

ICP-MS 測定 of 15 元素 Cu, Cd, Cs, La, Ce, Nd, Sm, Gd, W, Al, V, Co, Ni, Rb, Mo と K 濃度比から後進ステップワイズ法により選択された 3 元素 Cd, Cs, V と K 濃度の比により, 国産, 中国産の 2 群を判別する線形判別関数を構築した。試料 (1) 66 点中 64 点を正確に分類した (モデル C)。

4. 一粒判別検証結果

前節で構築した判別モデル B, C を用いて, 一粒判別検証用試料 (2-1), (2-2) の定量結果 (各元素濃度と K 濃度との比) から, 一粒判別の可能性について検証を行った。

モデル B に, 一粒判別検証用試料 (2-1), (2-2) の 6 元素 Ba, Ca, Mn, Nd, W, Ni 濃度と K 濃度との比を代入し, 国産, 中国産の判別を行った結果を表 7 に示す。判別モデル構築用に用いた試料からの一粒判別検証用試料 (2-1) 65 点については, 60 点を正しく判別し, 平成 15-17 年産の検証用試料 (2-2) 32 点については, 21 点を正しく判別した。

モデル C に, 一粒判別検証用試料 (2-1), (2-2) の 3 元素 Cd, Cs, V 濃度と K 濃度との比を代入し, 国産, 中国産の判別を行った結果を表 7 に示す。判別モデル構築用に用いた試料からの一粒判別検証用試料 (2-1) 65 点については, 62 点を正しく判別し, 平成 15-17 年産の検証用試料 (2-2) 32 点については, 29 点を正しく判別した。

モデル B における試料 (2-2) の適中率は約 65% であったが, モデル B, C のそれ以外の適用では, 約 80-90% の適中率であり, 良好な判別結果が得られ, 一粒判別の可能性が示唆された。

また, ICP-MS 測定 of 15 元素の濃度比から選択し構築したモデル C は, 全 23 元素の濃度比から選択し構築したモデル B と比較して, 判別モデル構築用試料 (1) の分類において, 判別に用いる元素数が少なくなったため (モデル

表 5 モデル構築用試料 (ロット約 100 粒) 及び一粒判別検証用試料の平均濃度比, 標準偏差, 相対標準偏差

	ロット試料 (1) (n=65)			一粒試料 (2-1) (n=65)			(2-1) 標準偏差
	平均濃度比 (/K)	標準偏差	相対標準偏差	平均濃度比 (/K)	標準偏差	相対標準偏差	(1) 標準偏差
	(-)	(-)	(%)	(-)	(-)	(%)	(-)
Ba	1.29E-4	6.89E-5	54	1.14E-4	1.24E-4	109	1.80
Ca	7.59E-2	1.59E-2	21	7.50E-2	3.17E-2	42	2.00
Fe	4.16E-3	2.97E-4	7	4.18E-3	7.24E-4	17	2.44
Mg	1.16E-1	4.79E-3	4	1.13E-1	1.28E-2	11	2.67
Mn	1.22E-3	1.56E-4	13	1.19E-3	2.70E-4	23	1.73
P	3.40E-1	2.68E-2	8	3.33E-1	5.31E-2	16	1.99
Sr	1.29E-4	6.08E-5	47	1.38E-4	1.18E-4	86	1.95
Zn	2.34E-3	2.22E-4	9	2.34E-3	3.61E-4	15	1.63
Cu	6.89E-4	1.50E-4	22	6.53E-4	2.00E-4	31	1.33
Cd	5.13E-6	4.17E-6	81	5.88E-6	5.24E-6	89	1.26
Cs	2.60E-6	2.41E-6	92	2.46E-6	2.77E-6	113	1.15
La	2.75E-7	2.25E-7	82	2.56E-7	3.07E-7	120	1.37
Ce	3.81E-7	3.87E-7	102	4.05E-7	4.77E-7	118	1.23
Nd	1.67E-7	1.73E-7	104	1.58E-7	2.10E-7	133	1.22
Sm	8.52E-8	8.79E-8	103	5.57E-8	9.94E-8	179	1.13
Gd	4.31E-8	5.50E-8	127	3.13E-8	6.49E-8	208	1.18
W	1.14E-7	2.02E-7	177	1.47E-7	2.58E-7	175	1.28
Al	4.01E-7	2.29E-7	57	3.66E-7	2.57E-7	70	1.12
V	5.76E-7	4.30E-7	75	6.83E-7	5.55E-7	81	1.29
Co	5.45E-6	2.84E-6	52	5.22E-6	3.58E-6	69	1.26
Ni	2.46E-4	1.54E-4	63	2.69E-4	2.07E-4	77	1.35
Rb	8.82E-4	4.47E-4	51	9.02E-4	5.04E-4	56	1.13
Mo	2.38E-4	1.73E-4	73	2.44E-4	2.19E-4	90	1.27

表 6 線形判別モデルの係数と定数

	モデル A	モデル B	モデル C
Ba (/K)	5.39	147000	—
Ca (/K)	-0.0431	-679	—
Mn (/K)	1.54	—	—
Cd (/K)	—	—	693000
Cs (/K)	—	-3520000	-2020000
Nd (/K)	-2080	-50800000	—
W (/K)	1090	20000000.0	—
Tl (/K)	—	66300000	—
V (/K)	—	—	-10300000
Ni (/K)	-2.21	-51500	—
定数	36.9	61.8	10.9

判別式に濃度 (濃度比) を代入し, 正の場合は日本産, 負の場合は中国産と判別する。

B: 6 元素, モデル C: 3 元素), 分類率は低下した (モデル B: 66 点中 66 点を正しく分類, モデル C: 66 点中 64 点を正しく分類). しかし, 一粒判別検証用試料 (2-1), (2-2) についての適中率は, モデル B と比較して, 判別に用いる元素数が少なくなったにもかかわらず, 約 10% 向上した (モデル B: 97 点中 81 点適中, モデル C: 97 点中 91 点適中). 判別対象となる試料が一粒と少量にもかかわらず, 他の判別モデル^{9)~11)} と比較しても良好な適中率を示し,

ICP-MS 測定元素の濃度比を用いたモデル C は, 丹波黒の一粒判別において有用であることが示唆された。

要 約

丹波黒の無機元素組成による産地判別モデルを構築し, 丹波黒一粒による産地判別の可能性について検討を行った。

国産, 中国産計 66 点の丹波黒について, 約 100 粒をマイクロ波試料分解装置により酸分解し, ICP-AES 法及び ICP-MS 法により計 24 元素測定した. 後進ステップワイズ法により選択した 6 元素 (Ba, Ca, Mn, Nd, W, Ni) と K の濃度比により, 全試料 66 点について国産, 中国産を正しく分類する線形判別モデルを構築した。

モデルの構築に用いた試料 65 点, 及び新たに収集した試料 32 点の計 97 点からそれぞれ一粒ずつ取り出し, 同様に各元素と K との濃度比を求めた. 6 元素と K との濃度比を, 構築した判別モデルに代入したところ, 約 84% (97 点中 81 点) が適中した. さらに, ICP-MS 測定 of 15 元素から選択した 3 元素 (Cd, Cs, V) と K との濃度比により線形判別モデルを構築し, 一粒による産地判別について検討したところ, 約 94% (97 点中 91 点) を適中し, 判別精度の向上を図ることができた。

本研究にあたり, 試料を提供して頂いた食品会社, 商社,

表 7 線形判別モデルの分類正答率及び判別適中率

		モデル A		モデル B		モデル C	
試料 (1)	国産	100% (45/45)	100% (66/66)	100% (45/45)	100% (66/66)	98% (44/45)	97% (64/66)
	中国産	100% (21/21)		100% (21/21)		95% (20/21)	
試料 (2-1)	国産	—		89% (39/44)	92% (60/65)	98% (43/44)	95% (62/65)
	中国産	—		100% (21/21)		90% (19/21)	
試料 (2-2)	国産	—		82% (14/17)	84% (27/32)	94% (16/17)	91% (29/32)
	中国産	—		87% (13/15)		87% (13/15)	

農業試験場の方々に感謝します。

文 献

- 1) Kunihisa, M., Matsumoto, S. and Fukino, N., Development of cleavage amplified polymorphic sequence (CAPS) markers for identification of strawberry cultivars., *Euphytica*, **134** (2), 209-215 (2003).
- 2) 紙谷元一, 竹内 徹, 楠目俊三, DNA 多型による白インゲンマメ品種「雪手亡」の識別, 育種学研究, **6**, 29-32 (2004).
- 3) 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**, 405-410 (2000).
- 4) 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**, 969-978 (2003).
- 5) 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).
- 6) Ariyama, K., Horita, H. and Yasui, A., Chemometric techniques on inorganic elements composition for the determination of the geographic origin of welsh onions, *Anal. Sci.*, **20**, 871-877 (2004).
- 7) 塚田政範, 藤原 守, 山崎行宏, 宮武 信, 小林 孝, ICP-MS 元素分析による梅干し等の産地判別, 農林水産消費技術センター調査研究報告, **28**, 10-16 (2004).
- 8) 臼井裕一, 塚田政範, 藤原 守, 津村明宏, 諸橋 保, 時本景亮, 日本産乾しいたけと中国産乾しいたけ判別法の検討, 農林水産消費技術センター調査研究報告, **27**, 45-54 (2003).
- 9) Anderson, K.A., Magnuson, B.A., Tschirgi, M.L. and Smith B, Determining the geographic origin of potatoes with trace metal analysis using statistical and neural network classifiers, *J. Agric. Food Chem.*, **47**, 1568-1575 (1999).
- 10) 法邑雄司, 鈴木忠直, 條 照雄, 安井明美, 日本産と中国産の黒大豆「丹波黒」における無機元素組成の差異, 日作紀, **74**, 36-40 (2005).
- 11) 小阪英樹, 畠中知子, 鈴木武志, 杉本敏男, 曳野亥三夫, 鈴木忠直, 戸田登志也, 無機元素組成を利用した黒大豆「丹波黒」種子の産地判別, 食科工, **53**, 344-353 (2006).

(平成 18 年 6 月 14 日受付, 平成 18 年 9 月 15 日受理)