

食品産地判別法の簡易・迅速化に関する研究

鈴木理博*¹ 関根正裕*²

Study on Simple Method to Distinguish the Origin of Food

SUZUKI Masahiro*¹, SEKINE Masahiro*²

抄録

試料調製の簡略化が期待されるレーザーアブレーション誘導結合プラズマ質量分析装置 (LA-ICP-MS) を用い、ソバに含まれる無機元素の定量法、及び産地判別への応用を検討した。²⁵Mgを内部標準とすることで、溶液法に対し±10%の精度で定量が可能であった。また、国内消費量の7割以上を占める中国産は、Mn、Zn、Rb、Srの4元素による主成分分析で特徴的な分布を示し、本手法の有効性が示唆された。

キーワード：産地判別， LA-ICP-MS， 微量金属， ソバ

1 はじめに

食品の産地偽装や残留農薬など輸入食品にかかわる問題が相次ぎ、大きな社会問題となっている。消費者の国産品に対する需要が急速に高まる中、生鮮野菜やうなぎなど一部の食品では供給不足も見られ、価格の高騰が起こっている。一方、不良在庫や国産品との価格差の広がりに伴い、新たな産地偽装が起こる事態も想定される。

前報¹⁾ではソバに含まれる微量金属をICP-AES及びICP-MSを用いて定量し、統計処理によって産地を判別できる可能性が示唆された。この手法は茶葉²⁾や黒大豆³⁾、ネギ⁴⁾などで報告されているが、分析には試料を溶液化する必要がある。煩雑な試料の前処理は時間を要し、多検体を分析するには不向きである。また、使用する試薬によって爆発の危険性もあり、分析者の習熟が求められる。

レーザーアブレーション誘導結合プラズマ質量分析装置 (LA-ICP-MS) は固体試料にレーザーを照射して微粒子を生成し、キャリアガスによってICP-MSへ導入する方法である。試料は未処理又は表面成形やペレット化など簡単な前処理で済み、迅速化が期待される。一方、レーザー出力の揺らぎに伴いサンプル導入量の変動する欠点があり、定量分析には内部標準が不可欠である。生体試料では¹³C及び²⁵Mgが報告されており^{5),6)}、前者は試料と標準物質の間にCの濃度差が無い前提に基づいている。後者は¹³Cを用いると信号強度比に経時変化が見られたのに対し、²⁵Mgを用いると一定の傾向を示したため、²⁵Mgが内部標準に適していると述べている。しかし、試料間でMgの濃度が異なるため、濃度が既知の場合など利用方法は限られるとも指摘している。

本研究では LA-ICP-MS (以下、LA 法と略す) を用い、ソバに含まれる無機元素の簡易、迅速な定量法と産地判別への応用を検討した。

*¹ 北部研究所 技術支援交流室

*² 生産技術部

2 実験

2.1 試料

表1に示す産地が明確な玄ソバ 23 試料を使用した。

表1 ソバ試料内訳

産地	試料数
日本	16
中国	4
オーストラリア	2
アメリカ	1

2.2 使用器具及び装置

2.2.1 器具

- ・メノー乳鉢
- ・塩ビリング (φ10mm)
- ・ペレット成型用ダイス

2.2.2 装置

- ・レーザーアブレーション誘導結合プラズマ質量分析装置 (LA-ICP-MS)

LA:CEATEC LSX-200

ICP-MS: Agilent HP-4500

- ・電気乾燥機: ADVANTEC
- ・プレス機: 前川試験機製作所

2.2.2 解析ソフト

- ・EXCEL 統計 ver6.0 (エスミ)
- ・EXCEL 多変量解析 ver5.0 (エスミ)

2.3 試料調製

玄ソバの殻を取り除いてメノー乳鉢で粉碎し、電気乾燥機で 85℃ 4 時間乾燥して粉末試料とした。試料成型時のコンタミネーションを避けるため、ダイスと塩ビリングの間に薬包紙を挟み、粉末試料約 1g をリングに詰め、プレス機で 6t 3 分間圧縮してペレットを作成した。

2.4 測定

生体試料は一般的に元素濃度が不均質なため、前節で述べたように粉碎し均質化を図っている。しかし、LA は微小領域をターゲットとしており、溶液法では問題にならない程度の均質性でも分析精度に影響を及ぼす可能性が考えられる。そ

こでビーム径を 200 μm と大きめに設定し、直線状に照射することで、平均化されたデータが得られると考えた。また、元素が選択的に蒸発するアブレーションフラクショナルアブレーションや試料の形状を考慮し、LA の条件を表2のとおりとした。

ICP-MS の測定条件を表3に示す。試料がレーザーを照射されてから検出器に到達するまでの時間差、及び照射直後のアブレーションの不安定さを考慮し、照射開始 15 秒後からデータの取り込みを行なった。

表2 LA 測定条件

Laser	Nd:YAG
Laser mode	Q-switch
Wavelength	266nm
Laser energy	6.5mJ
Fire frequency	10Hz
Beam size	200 μm
Scan mode	Line
Scan speed	60 μm/sec
Focus	Sample surface

表3 ICP-MS 測定条件

RF power	1300W
Plasma gas flow(Ar)	15.0L/min
Carrier gas flow(Ar)	1.4L/min
Data acquisition	3point/mass
Repetition	5times
Integration time	0.3 or 1.5sec/mass
Internal standard	¹³ C, ²⁵ Mg
Measured masses	⁵⁵ Mn, ⁶⁰ Ni, ⁶³ Cu, ⁶⁶ Zn, ⁸⁵ Rb ⁸⁸ Sr, ⁹⁵ Mo, ¹³⁷ Ba

3 結果と考察

3.1 試料の均質性評価

国産ソバ (以下、JP14 と表す) を用いてペレットを 11 個作成し、1 個を基準に残りの 10 個を試料として均質性評価を行った。試料セル内に基準と試料を並べて入れ、ガスブランク→基準→試料の順に 1 試料につき 5 回測定した。⁸⁵Rb における、測定回数に対する基準と試料の **R** (=強度(測定元素)/強度(内標)) の比を図3に示す。

¹³C、²⁵Mg とともに 1 回目の相対標準偏差 (RSD) が 2 回目以降に比べて極端に大きく、¹³C で 36 %、²⁵Mg で 14% であった。また **R**(試料)/**R**(基準) は 1 から大きく外れ、この傾向は他の元素でも同様であった。無機試料の NIST610 ガラス標準

物質を用い、²⁵Mgを内部標準に同様の測定を行ったが、1回目から安定してRSDは5%程度であった。また、比は1.00±0.05に収まっていたことから、1回目が不安定な現象は有機物試料特有の可能性も考えられる。しかし、産地判別とは趣旨が異なるため今後の検討課題とし、ここでは2~5回目の測定値を用いた。この結果、RSDは5%以内、比は1.00±0.05に収まり、ガラス標準試料と同等の値が得られ、試料の均質性が確認された。

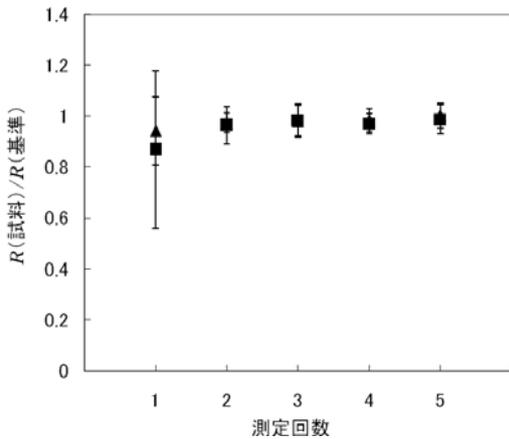


図3 ⁸⁵Rb測定時の測定回数とR(試料)/R(基準)
■¹³C、▲²⁵Mg (n=10)

3.3 分析値の再現性

溶液法で求めたJP14の濃度を基準にして、オーストラリア産のソバを異なる実験日で定量し、再現性を検討した。定量には以下の比例計算式を用いた。

$$[X]_{unknown} = \frac{[S]_{unknown}}{[S]_{JP14}} \frac{R_{unknown}}{R_{JP14}} [X]_{JP14}$$

[X]：測定元素Xの濃度

[S]：内部標準の濃度

内部標準に¹³Cを用いる場合、 $[S]_{unknown}=[S]_{JP14}$ とみなした。一方、²⁵Mgでは $[S]_{unknown}$ に溶液法の平均値2.51mg/g、 $[S]_{JP14}$ には2.84mg/gを使用した。Mnの定量結果を表5に示す。

表5 内部標準別Mn定量値の日間変動(n=4)

	¹³ C内標(μg/g)	²⁵ Mg内標(μg/g)
1日目	28.2±0.9	24.0±1.0
2日目	26.4±0.6	24.5±1.2
3日目	26.6±1.0	24.8±0.7

Bonferroni法により検定すると、¹³Cを内部標準とした場合、有意水準 $\alpha=0.01$ で1日目と2日目に有意差があったのに対し、²⁵Mgは有意差がなかった。同様の結果はZnでも観測され、²⁵Mgでは全ての元素で有意差は見られなかった。また、溶液法のMn濃度 $22.7\pm 0.2\mu\text{g/g}$ と比べても、²⁵Mgを用いた方が良い結果が得られた。¹³Cの精度が悪い原因として、測定元素との挙動の違いや、試料間でCの濃度が等しいという前提が誤っている可能性も考えられる。以上の結果から、内部標準には²⁵Mgを用いることにした。

3.4 未知試料の測定と産地判別

LA法と溶液法の濃度の比較として、Srの例を図4に示す。両手法には高い相関性があり、他の元素でも $r>0.900$ であった。また、測定した8元素の溶液法に対するLA法のズレは、23試料の中央値で±10%程度であった。試料間のMg濃度に幅があることを考慮すると、両手法の分析値は概ね一致していると考えられる。

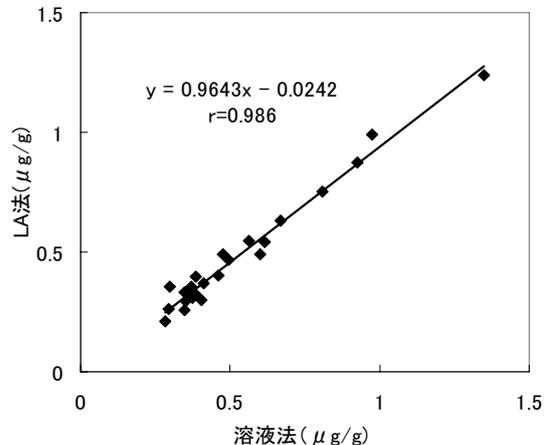


図4 LA法と溶液法のSr濃度の比較

そこで8元素の任意の組み合わせに対して主成分分析を適用し、産地判別を試みた。溶液法で判別に有効とされたK、Mgはキャリアガスに由来するスペクトル干渉や内部標準で使用出来ないため、オーストラリア産の判別は難しかった。しかし、国内消費量の7割以上を占める中国産Mn、Zn、Rb、Srの組み合わせで、図5に示すように特徴的な分布が得られた。

精度を高めるには新たな元素や同位体比の導入、ハード面の改良が求められる。判別に有効な指標となる可能性が高い重元素は、食品では極微量しか含まれていない。重元素の感度を比較的簡単に上げる効果が期待される、N₂ガスをキャリアガスに混合する手法⁷⁾などの検討が必要である。

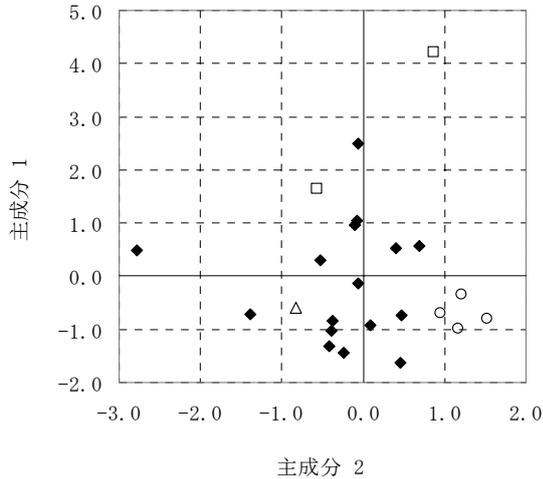


図5 Mn、Zn、Rb、Srによる主成分得点
◆日本、○中国、□オーストラリア、△アメリカ

3.5 分析の迅速化

LA法と溶液法は、粉末試料の作成以外の過程で要する時間が大きく異なる。1試料あたりの時間の目安を表6に示す。難分解性の試料はさらに分解時間と手間を要するため、迅速化の効果がより大きいと考えられる。産地のシェアや判別の視点の置き方など、目的に応じて両手法を使い分けることが重要である。

表6 LA法と溶液法の前処理時間の比較

LA法	
ペレット作成	15分
溶液法	
ポリ容器の浸漬、洗浄等	2日
酸分解等の試料調製	1日

4 まとめ

LA-ICP-MSを使用し、簡易・迅速な産地判別法を検討したところ、以下の知見が得られた。

- 1) ソバに含まれる無機元素の定量は、²⁵Mgを内部標準にすることで、溶液法と高い相関性が得られた。
- 2) LA法は溶液法に比べ試料の前処理時間が大

幅に短縮され、国内消費量の多くを占める中国産の判別には有効であった。

謝辞

本研究を進めるに当たり、客員研究員として御指導いただきました東京大学地震研究所の折橋裕二助教、及びご助言をいただきました同研究所の中井俊一准教授に感謝の意を表します。

参考文献

- 1) 鈴木理博, 関根正裕: 微量金属成分を用いた食品原料産地判別技術の確立, 埼玉県産業技術総合センター研究報告, **5**, (2007)
- 2) Pedro L.Fernandez-Caceres, J.Martin, Fernando Pablos and A.Gustavo Gonzalez: Differentiation of tea (*Camellia sinensis*) Varieties and Their Geographical Origin According to their Metal Content, *J.Agric.Food Chem.*, **49**, (2001)4775
- 3) 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: 無機元素組成による黒大豆「丹波黒」の産地判別, 日食工誌, **53**, 6(2006)344
- 4) kaoru Ariyama, Hiroshi Horita and Akemi Yasui: Application of Inorganic Element Ratios to Chemometrics for Determination of the Geographic Origin of Welsh Onions, *J.Agric.Food Chem.*, **52**, (2004)5803
- 5) Jorg Feldmann, Andrew Kindness and Paul Ek: Laser ablation of soft tissue using a cryogenically Cooled ablation cell, *J.Anal.At.Spectrom.*, **17**, (2002)813
- 6) Koji Baba, Eiki Watanabe, Heesoo Eun and Masumi Ishizaka: Direct determination of cadmium in rice flour by laser ablation-ICP-MS, *J.Anal.At.Spectrom.*, **18**, (2003)1485
- 7) 平田岳史, 浅田陽一, Aponya Tuheng, 大野剛, 飯塚毅, 早野由美子, 谷水雅治, 折橋裕二: レーザーアブレーション-誘導結合プラズマ質量分析法による地球化学試料の微量元素分析, 分析化学, **53**, 6(2004)491