

微量無機元素組成によるまつたけの原産地判別の検討

杉山 真士*, 榎本 康敬*

Determination of place of origin of Matsutake (*Tricholoma matsutake*) by composition of inorganic elements

Masashi SUGIYAMA* and Yasuyuki ENOMOTO*

*Central Customs Laboratory, Ministry of Finance

6-3-5, Kashiwanoha, Kashiwa, Chiba 277-0882 Japan

We conducted a preliminary examination to evaluate the possibility of chemically determining the place of origin of Matsutake (*Tricholoma matsutake*) samples from North Korea, South Korea, China (Heilongjiang province, Jilin province, Sichuan province and Yunnan province) and the USA. The Matsutake samples were digested with nitric acid by the microwave digestion system. The concentrations of inorganic elements (Na, Al, V, Mn, Fe, Ni, Cu, As, Rb, Sr, Ag, Cd, Cs, Ba and Pb) were determined by inductively-coupled plasma mass spectrometer (ICP-MS). Principal component analysis based on the composition of inorganic elements in the analyzed Matsutake samples showed some differences among their places of origin. Furthermore, the hitting ratio of linear discriminant analysis for North Korea, South Korea, northeastern China and southwestern China was 63 to 80%.

1. 緒 言

平成18年10月に発動し、現在も継続している北朝鮮からの全貨物の輸入禁止、北朝鮮から第3国への仲介貿易取引の禁止に伴い、関税中央分析所においては、輸入禁止措置以前に北朝鮮からの主要輸出品目であったものに対して、原産地判別が可能か否かの検討を行ってきた^{1)~9)}。

農水産品の原産地を科学的に判別する方法として、①有機成分分析、②無機成分分析、③DNA分析、④安定同位体比分析等があり、本研究のターゲットであるまつたけについては、③のDNA多型マーカーを指標とした検討が行われ、北朝鮮を含む朝鮮半島周辺を産地とするまつたけに対して、中国南西部及びブータンを産地とするまつたけの判別が可能であること及び朝鮮半島周辺を産地とするまつたけについて緯度により傾向が認められることが報告されている⁵⁾。②の方法として、誘導結合プラズマ発光分析装置 (ICP-AES) 及び誘導結合プラズマ質量分析装置 (ICP-MS) により無機元素の定量分析を行い、得られた多元素の組成を指標とする手法の開発が近年盛んに行われており、市販品を対象とした検査にも利用されている^{10)~14)}。

そこで、本研究では、予備的検討として、限られた数のサンプルを用いて、まつたけの微量無機元素の含有量を ICP-MS で測定し、それらのデータがまつたけの原産地判別に利用可能かどうかの検討を行った。

2. 実 験

2.1 試 料

本実験に使用した分析試料を Table 1 に示す。また、それらの原産地の位置関係を Fig. 1 に示す。

Table 1 Matsutake (*Tricholoma matsutake*) samples used in this study

Place of origin	N	Date of purchase	Abbreviation
North Korea	1	Fall 2006	NKM
North Korea	2	Fall 2006	NKN
North Korea	1	Fall 2006	NKO
North Korea	4	1 Dec. 2006	NKS
South Korea	5	22 Dec. 2011	KA
South Korea	5	22 Dec. 2011	KB
South Korea	2	12 Oct. 2006	KR
China / Heilongjiang province	5	27 Sep. 2007	HE
China / Jilin province	5	27 Sep. 2007	JI
China / Sichuan province	5	27 Sep. 2007	SI
China / Yunnan province	5	27 Sep. 2007	YU
USA	5	27 Dec. 2011	AW

N indicates the number of samples analyzed in this study.



Fig. 1 Geographic locations of the production areas of the Matsutake (*Tricholoma matsutake*) samples analyzed in this study

2.2 試 薬

汎用混合標準溶液 (XSTC-13)	: SPEX
内部標準用 10 ppm 標準溶液(Sc, Y, Ho)	: ジーエルサイエンス(株)
硝酸 (超微量分析用)	: 和光純薬(株)
過酸化水素水 (原子吸光分析用)	: 和光純薬(株)

2.3 分析装置

超純水製造装置	: Milli-Q Advantage A10 (MILLIPORE)
凍結乾燥機	: FD-1000 型(東京理化器械(株))
マイクロウェーブ試料分解装置 ^{a)}	: ETHOS 1 (MILESTONE)
ICP-MS	: 7500CE (Agilent Technologies)
ディスポーサブルチューブ ^{a)}	: Digi TUBE (65 ml 用) (ジーエルサイエンス(株))

多変量解析ソフト
: STATISTICA Pro 06J (スタッツソフトジャパン(株))

^{a)} テフロン製分解管及び Digi TUBE は、15~20%の硝酸溶液
に一晩以上浸漬した後、超純水ですすぎ洗いを行い、乾燥
させて使用した。

2.4 実験方法

2.4.1 試料調製

樹脂製のまな板とセラミック刃の包丁を用いて、試料の表面及び石附を切除、傘部分と柄部分に分割する。それぞれの部分を 5 mm 角程度に切り、超純水で洗浄した後、凍結乾燥した。その乾燥試料を清浄な樹脂製の袋に入れ、同じ樹脂製の袋で上下に挟み、めのう乳鉢で袋の上から試料を潰して均一化した。均一化した試料約 0.1 g を分解管に正確に量り取り、硝酸 7 ml、過酸化水素水 1 ml を添加し、マイクロ波試料前処理装置で 190°Cまで (30 分間で) 升温、190°Cを 15 分間保持する条件により完全に分解した。得られた分解溶液を Digi TUBE に移し、超純水で 50 ml に定容した。この溶液 10 ml を別の Digi TUBE に分注し、Sc, Y, Ho を各 1 ppm になるように調整した内部標準溶液を 1 ml 加え、更に硝酸 1.2 ml を加えた後、超純水で 25 ml に定容して ICP-MS 用の検液とした。

2.4.2 微量無機元素の定量分析

ICP-MS のデータの積分時間は、測定元素ごとにそのピーク強度 (感度) を考慮し、0.01 ~ 0.4 秒の範囲で最適化した。

また、今回測定した元素が硝酸酸性下で安定であること及び赤崎ら⁹⁾により検液中の硝酸濃度が低下すると、鉛以上の質量数の元素については、特に超低濃度 (ppt オーダー) において、それらのピーク強度が不安定となる現象が認められたため、検量線作成用の標準溶液を含め、全ての測定溶液中の硝酸濃度が 5%になるように調整した。

3. 結果及び考察

3.1 まつたけ中の無機元素についての定性分析

定量分析に先立ち、まつたけに含まれる微量無機元素の定性分析を行った。韓国、中国及びアメリカ産のまつたけについて、上記 2.4 の実験方法と同様の操作で酸分解を行い、超純水で 50 ml に定容した分解溶液を検液として ICP-MS で定性分析を行った。検出されたイオンの質量数 (m/z) と強度を既知の元素の同位体比と比較することにより 15 種類 (Na, Al, V, Mn, Fe, Ni, Cu, As, Rb, Sr, Ag, Cd, Cs, Ba, Pb) の元素を同定した。

3.2 繰り返し精度と添加回収実験

分析条件の妥当性確認の手段として、韓国産のまつたけ試料を用いて上記 15 種類の測定元素についての再現性の確認及び添加回収実験を行った (Table 2)。

Table 2 Multielement determination results of minor-to-ultratrace elements in a Korean Matsutake sample

Element	m/z	Concentration ^{b)}	RSD, %	Detection limit ^{c)}	% Recovery
Na	23	34.5 ±0.63	1.8	0.2	85
Al	27	33.7 ±2.4	7.0	0.4	84
Sc ^{a)}	45	-	-	-	-
V	51	0.051 ±0.002	3.9	0.0002	102
Mn	55	8.1 ±0.040	0.5	0.007	90
Fe	56	50.0 ±1.7	3.5	8.4	99
Ni	60	0.25 ±0.002	0.7	0.002	100
Cu	63	24.0 ±1.1	4.5	0.01	93
As	75	4.5 ±0.059	1.3	0.002	95
Rb	85	46.7 ±0.27	0.6	0.002	96
Sr	88	0.20 ±0.006	3.2	0.0003	102
Y ^{a)}	89	-	-	-	-
Ag	107	0.71 ±0.018	2.6	0.002	99
Cd	111	1.2 ±0.012	1.0	0.001	83
Cs	133	0.24 ±0.002	1.0	0.0005	92
Ba	137	0.39 ±0.015	3.8	0.003	99
Ho ^{a)}	165	-	-	-	-
Pb	208	0.18 ±0.002	1.3	0.0005	101

a) The elements ⁴⁵Sc, ⁸⁹Y and ¹⁶⁵Ho are internal standards by ICP-MS. ;

b) Mean ± Standard Deviation (μg/g) (n=7) ; c) Analytical detection limit (μg/g)

微量無機元素分析においては、一般に独立した繰り返し分析の相対標準偏差 (Relative Standard Deviation, RSD) が 10%以下、添

加回収率が80%～120%の範囲だと結果が良好とされているので¹⁵⁾、測定元素全てにおいて概ね良好な結果が得られた。

3.3 部位別分析

まつたけの測定対象部位を選定するために、傘部分及び柄部分について、それぞれに含まれる微量無機元素の定量分析を行った(Table 3)。両者の違いを柄部分に対する傘部分の濃度比で見ると、Cdの2.7倍からBaの0.8倍の範囲に全ての元素が収まることから傘部分及び柄部分の2部位間にはほとんど差がみられないものの、Sr及びBaを除く13元素について、傘部分が柄部分より元素濃度が高い傾向にあった。

精度の高い原産地判別手法を確立するためには、同じ原産地のまつたけ間で、元素濃度に変動が少ないことが望まれる。傘部分と柄部分を比較すると、8元素(Al、V、Mn、Fe、Ni、Rb、Sr、Ag)については傘部分の方が柄部分よりも変動が少なく、7元素(Na、Cu、As、Cd、Cs、Ba、Pb)については柄部分の方が傘部分よりも変動が少なく、全体として僅かではあるが、傘部分の方が柄部分よりも変動が少なかった。従って、まつたけの原産地判別の検討には、元素濃度が高く、変動が少ない傘部分を分析対象とすることにした。

Table 3 Analytical results for pileus and stipe parts of Matsutake samples

Element	Pileus		Stipe	
	Concentration ^{a)}	RSD, %	Concentration ^{a)}	RSD, %
Na	41.6 ±8.5	20.5	21.9 ±3.7	17.0
Al	61.3 ±33.9	55.3	40.9 ±23.9	58.4
V	0.057 ±0.021	36.6	0.046 ±0.024	51.6
Mn	15.9 ±2.1	12.9	12.2 ±2.3	19.2
Fe	107.8 ±19.2	17.8	86.8 ±20.9	24.1
Ni	0.38 ±0.064	16.9	0.34 ±0.072	21.4
Cu	37.2 ±11.5	30.9	20.5 ±5.8	28.6
As	185.0 ±156.8	84.7	112.2 ±78.5	69.9
Rb	112.5 ±56.1	49.9	96.9 ±53.4	55.1
Sr	0.51 ±0.15	30.3	0.53 ±0.19	36.7
Ag	7.3 ±3.1	43.1	3.3 ±1.7	52.3
Cd	1.7 ±1.4	78.8	0.63 ±0.40	63.3
Cs	0.78 ±0.44	56.1	0.64 ±0.35	54.5
Ba	0.55 ±0.25	45.3	0.69 ±0.29	41.7
Pb	0.27 ±0.11	42.7	0.19 ±0.017	9.3

a) Mean ± Standard Deviation (μg/g) (n=5)

3.4 原産地判別分析

3.4.1 多元素同時定量分析

微量無機元素についてICP-MSで定量し、試料の原産地ごとに各元素含有量の平均値と標準偏差をまとめたものをTable 4及びFig. 2に示す。表中には平均値のばらつきの目安としてRSDも合わせて示した。

Table 4 Analytical results for minor-to-ultratrace elements in Matsutake samples from various production areas

Element	Concentration ^{a)} (μg/g)						Mean ^{b)} (μg/g)	RSD ^{c)} (%)
	North Korea	South Korea	China		USA			
			Heilongjiang	Jilin	Sichuan	Yunnan		
Na	125 ±208	33.2 ±13.2	20.8 ±2.3	18.1 ±4.0	420 ±342	75.7 ±59.0	36.9 ±28.3	104
Al	14.3 ±7.7	89.8 ±84.1	14.6 ±2.8	13.6 ±5.2	15.6 ±4.8	22.4 ±7.6	78.7 ±16.4	35.6
V	0.011 ±0.005	0.12 ±0.14	0.006 ±0.004	0.006 ±0.008	0.007 ±0.006	0.025 ±0.014	0.063 ±0.019	0.034
Mn	11.5 ±1.1	15.3 ±3.1	12.8 ±1.1	11.6 ±2.8	16.3 ±2.2	14.9 ±2.1	27.4 ±6.4	15.7
Fe	84.5 ±13.6	113 ±44.9	95.0 ±10.5	73.6 ±7.0	63.5 ±14.4	83.4 ±11.6	60.7 ±10.3	82.0
Ni	0.48 ±0.047	0.36 ±0.081	0.58 ±0.061	0.52 ±0.17	0.33 ±0.094	0.40 ±0.083	0.30 ±0.016	0.42
Cu	37.4 ±16.6	42.1 ±10.5	28.5 ±12.0	33.8 ±6.6	42.4 ±7.5	49.9 ±11.1	29.4 ±6.9	37.6
As	111 ±212	83.2 ±130	64.8 ±44.8	27.4 ±12.8	35.4 ±12.9	38.4 ±27.8	2.0 ±0.73	51.7
Rb	279 ±170	111 ±55.5	170 ±126	53.2 ±23.2	88.3 ±64.9	87.3 ±63.9	155.1 ±8.1	135
Sr	0.77 ±0.85	0.39 ±0.14	0.43 ±0.25	1.4 ±1.2	0.95 ±0.52	0.64 ±0.44	1.1 ±0.065	0.81
Ag	7.5 ±5.7	4.8 ±3.1	6.6 ±2.5	6.4 ±4.8	4.2 ±2.7	4.8 ±1.6	1.2 ±0.21	5.1
Cd	2.8 ±1.6	1.8 ±1.1	1.7 ±1.3	1.5 ±1.0	0.66 ±0.68	1.2 ±0.94	0.25 ±0.10	1.4
Cs	2.9 ±4.5	1.5 ±2.0	1.2 ±1.0	0.37 ±0.44	1.8 ±2.3	0.63 ±0.32	6.2 ±3.0	2.1
Ba	0.36 ±0.10	0.59 ±0.35	0.19 ±0.080	0.48 ±0.32	0.57 ±0.13	0.50 ±0.28	2.1 ±0.43	0.69
Pb	0.050 ±0.020	0.23 ±0.14	0.019 ±0.011	0.026 ±0.011	0.039 ±0.016	0.060 ±0.035	0.079 ±0.008	0.072

a) Mean ± Standard Deviation (North Korea n=8, South Korea n=12, Others n=5); b) The Mean value was calculated from 7 geographically different matsutake samples.

c) The RSD value was estimated for the Mean value of 7 geographically different matsutake samples.

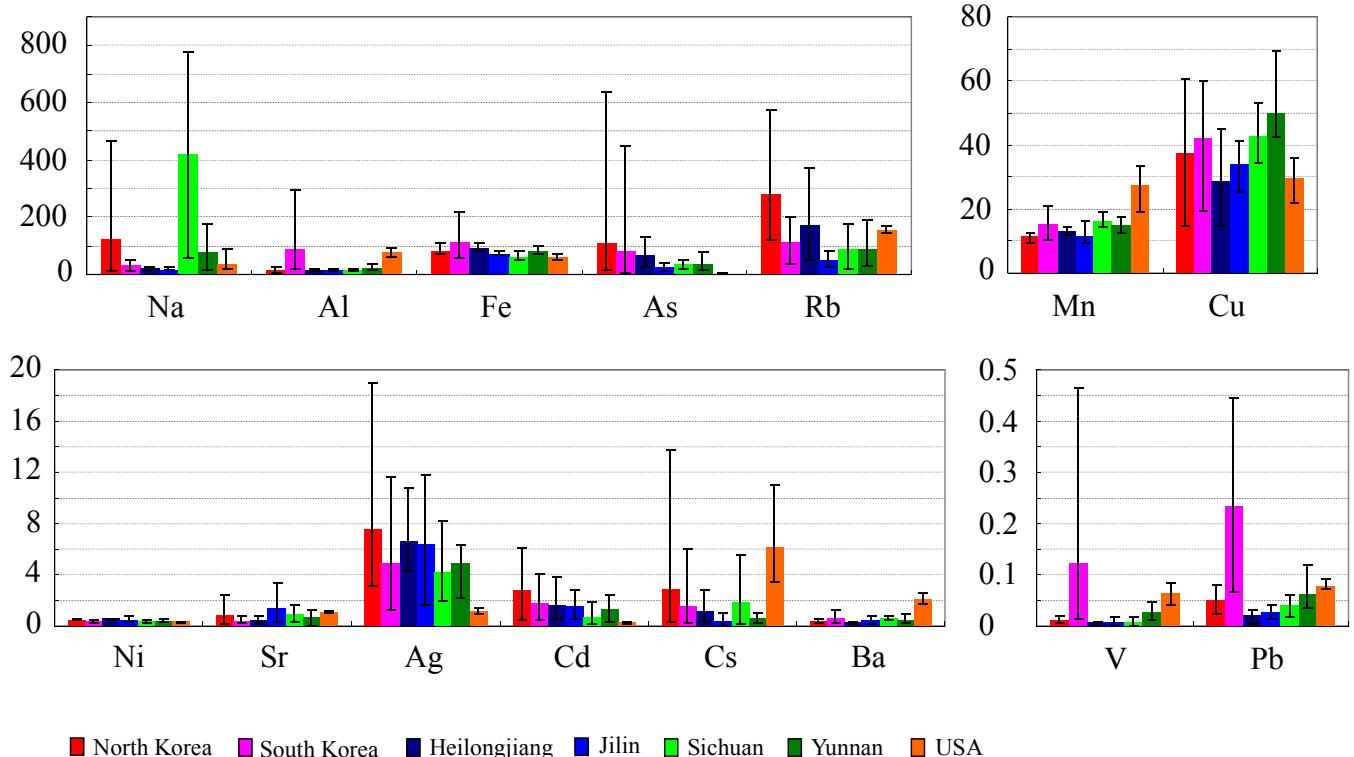


Fig.2 Concentrations of 15 minor-to-ultratrace elements in the analyzed Matsutake (*Tricholoma matsutake*) samples whose data were grouped according to their place of origin. The upper and lower values of the narrow bar attached to each colored bar represent the maximum and minimum values of each element concentration.

Fe, Ni, Cu については、平均値の RSD が 25% 以下と小さく、それらの元素濃度には原産地による違いがあまり表れていないといえる。一方、他の元素については、いずれも RSD が 35% 以上となつた。特に Na, Al, V, Cs, Ba, Pb については RSD が 90% 以上となり、原産地ごとの違いが大きかつた。

北朝鮮産まつたけについては、他の産地のものより、Rb, Ag, Cd 濃度が高く、Mn 濃度が低い傾向がある。しかし、北朝鮮産と他の産地の無機元素濃度の平均値間に、5% 水準での有意差は認められず、特定の元素の定量値から原産地を推定するのは不可能であった。

3.4.2 主成分分析

今回測定した 15 元素各々を単独で比較しても原産地を判別することは困難であるため、測定元素全てを用いて主成分分析を行つた。第 1 主成分及び第 2 主成分の得点を基にプロットした結果を Fig. 3 に、更に第 3 主成分の得点も加えてプロットした結果を Fig. 4 に示す。第 1 主成分の寄与率は 28.7%、第 2 主成分の寄与率は 21.0%、第 3 主成分の寄与率は 11.2% であり、第 2 主成分までの累積寄与率は 49.7%、第 3 主成分までの累積寄与率は 60.9% であった。主成分分析の相関に基づく 15 元素各々の寄与率を Table 5 に示す。第 1 主成分は Al, V, Fe, Pb 濃度を、第 2 主成分は Mn, Ag, Cs, Ba 濃度を、第 3 主成分は Na, Cu, Rb, Sr, Cs 濃度を主要な因子としていることが分かる。

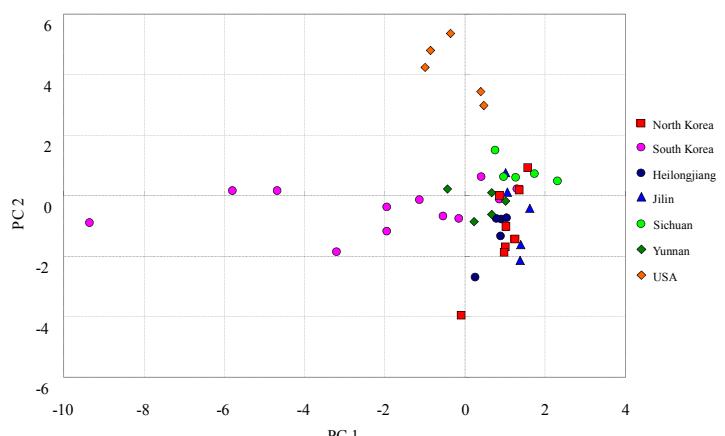


Fig. 3 Scatter diagram of Matsutake (*Tricholoma matsutake*) samples based on the first and second principal component scores

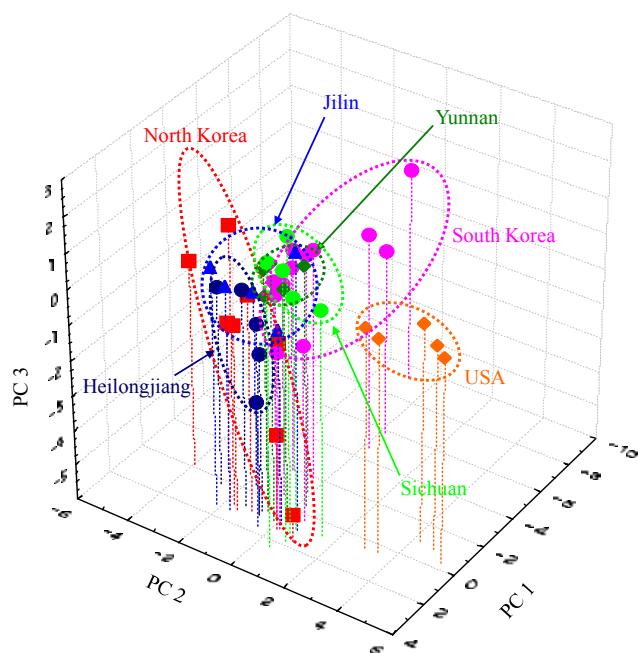


Fig. 4 Three-dimensional plots of Matsutake (*Tricholoma matsutake*) samples based on the first, second and third principal component scores

Table 5 Proportion of PC analysis using 15 elements for 45 samples

	PC 1	PC 2	PC 3
Na	0.009740	0.000409	0.118164
Al	0.200011	0.012637	0.000077
V	0.198307	0.002224	0.000046
Mn	0.015389	0.181280	0.020689
Fe	0.168718	0.041402	0.002431
Ni	0.001454	0.082243	0.018690
Cu	0.003382	0.018524	0.109796
As	0.002769	0.071168	0.000173
Rb	0.003940	0.003853	0.328198
Sr	0.012853	0.012990	0.167312
Ag	0.006248	0.143746	0.010752
Cd	0.000001	0.091516	0.030211
Cs	0.002438	0.119915	0.180237
Ba	0.023403	0.187641	0.010985
Pb	0.168454	0.001883	0.000160

第1主成分及び第2主成分の得点に基づくプロットでは、アメリカ産はある程度のまとまりとして表され、韓国産も概ね他の产地から分離しているが、北朝鮮産、中国・黒竜江省産、中国・吉林省産、中国・四川省産、中国・雲南省産のまつたけはプロットの範囲が重なるため、原産地ごとに分離することはできなかった。さらに、上記のデータに第3主成分の得点を加えプロットすると、アメリカ産、韓国産に加え、中国・四川省産、中国・雲南省産もある程度のまとまりとして表された。

北朝鮮産まつたけについては、地理的に離れているアメリカ産、中国・四川省産及び中国・雲南省産のものとは判別できる可能性が示唆されたが、地理的に近い中国・黒竜江省産、中国・吉林省産及び韓国産の一部については、判別は困難であった。

3.4.3 クラスター分析

今回測定した15元素のデータを用いて、郡平均法によるクラスター分析を行った (Fig. 5)。その結果、アメリカ産は他の原産地のものに対してクラスターを形成した。他の原産地のものについても、ある程度のまとまりは認められるが、独立したクラスターは形成しなかった。

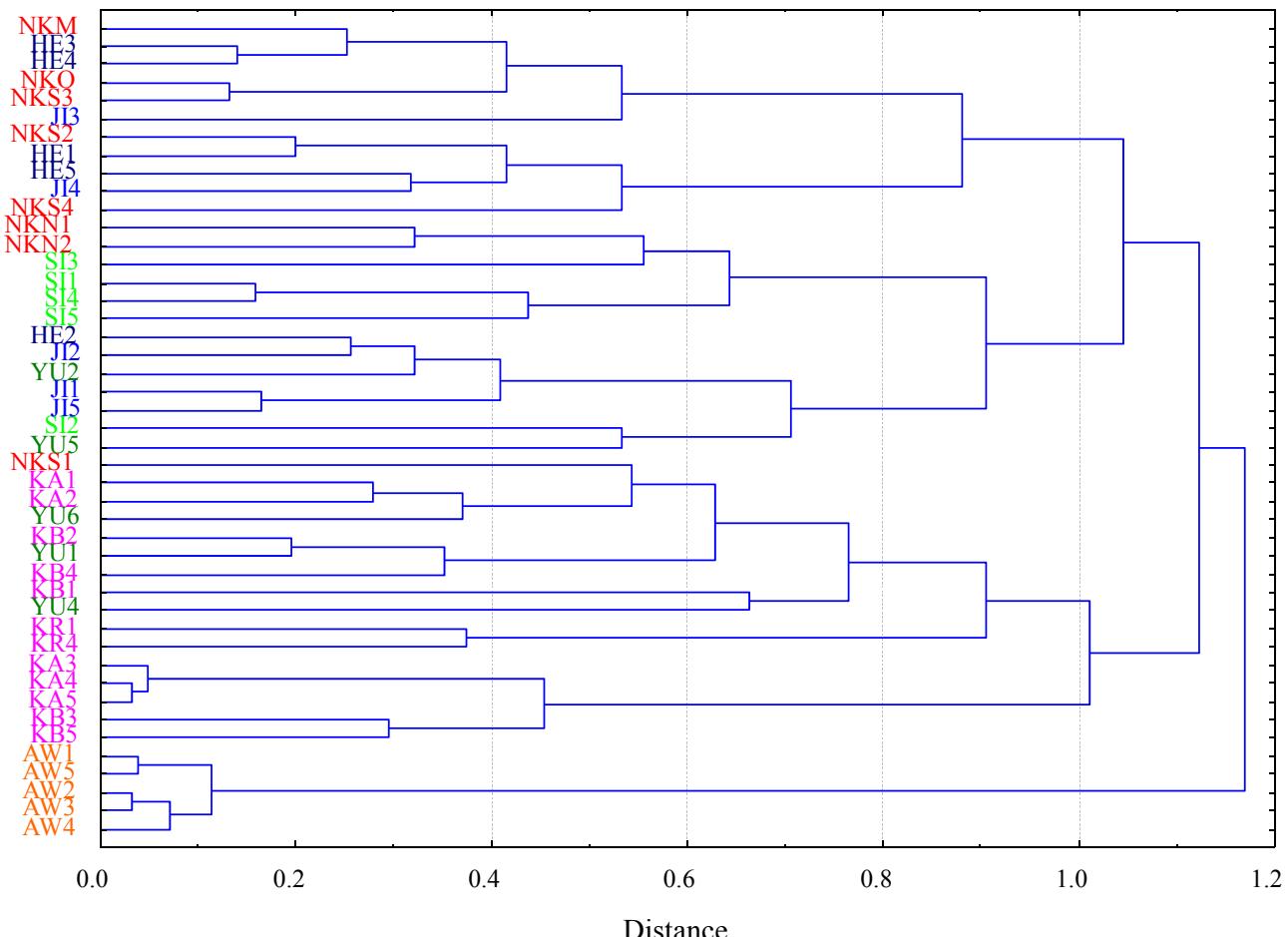


Fig. 5 Tree diagram of Matsutake (*Tricholoma matsutake*) samples based on cluster analysis by UPGMA (unweighted pair-group method using arithmetic averages),
1 - Pearson correlation

3.4.4 判別分析

今回測定した 15 元素のデータを用いて、線形判別分析を行うことにより、判別モデルの構築を行った。なお、判別モデルの構築に当たっては、北朝鮮産まつたけの判別を目的とし、外見では判別が難しい東アジア産まつたけにターゲットを絞り、さらに判別モデルをシンプルにするために中国・黒龍江省と中国・吉林省を合わせて中国北東部、中国・四川省と中国・雲南省を合わせて中国南西部とし、4 産地（北朝鮮、韓国、中国北東部、中国南西部）に分類する 4 郡の線形判別分析を行った。後進ステップワイズ法により判別に用いる元素を Ni, Pb の 2 元素に選択し、下記判別関数を構築した。

判別得点 1 (北朝鮮)

$$= 65.2252 [\text{Ni}] - 22.5781 [\text{Pb}] - 16.6399$$

判別得点 2 (韓国)

$$= 35.3660 [\text{Ni}] + 20.8282 [\text{Pb}] - 9.9442$$

判別得点 3 (中国北東部)

$$= 77.5603 [\text{Ni}] - 32.7783 [\text{Pb}] - 22.3963$$

判別得点 4 (中国南西部)

$$= 49.0126 [\text{Ni}] - 15.0988 [\text{Pb}] - 9.9545$$

上記の判別関数に試料中の Ni, Pb 元素の濃度を代入し、判別得点が最大となる群に属すると判定すると、各産地の分類的中率は 63%~80% となった (Table 6)。この的中率は高くはないが、微量無機元素組成によりまつたけの原産地を判別できる可能性が示唆された。今後さらに的中率を高くするためには、採取地域の異なるサンプルデータを拡充する必要がある。さらに、まつたけ中に含まれる微量無機元素は生育環境の変化に影響を受ける可能性があるため、複数年にわたりデータを蓄積することにより、正確な原産地ごとの傾向を把握することができると考えられる。

Table 6 Analytical results for linear discriminant function of Matsutake samples

Place of origin	N	Hitting ratio	Result			
			North Korea	South Korea	China / Northeast	China / Southwest
North Korea	8	63	5	0	2	1
South Korea	12	75	0	9	0	3
China / Northeast	10	70	1	0	7	2
China / Southwest	10	80	1	0	1	8

N indicates the number of samples analyzed in this study.

4. 要 約

微量無機元素組成によるまつたけの原産地判別の検討を行った。ICP-MS を用いて、まつたけの傘部分に含まれる 15 種類 (Na, Al, V, Mn, Fe, Ni, Cu, As, Rb, Sr, Ag, Cd, Cs, Ba, Pb) の微量無機元素含有量を測定したところ、一部の元素に原産地特有の傾向が見られたが、個体差が非常に大きく、特定の元素の含有量から原産地を推定するのは困難であった。また、測定した全元素のデータを

用いた多変量解析により、ある程度の原産地ごとのまとまりが認められた。さらに、4 産地（北朝鮮、韓国、中国北東部、中国南西部）の判別モデルを作成し、得られた分類的中率は 63%～80% であった。

今回の研究では、限定的な数のサンプルしか使用していないため、一般的な傾向を把握するには、採取地域の異なるサンプルデータを拡充し、更に検討する必要がある。

文 献

- 1) 竹元賢治, 渡邊裕之, 三枝朋樹: 関税中央分析所報, **47**, 5 (2007).
- 2) 上野勝, 三浦誠, 三浦徹, 渡邊裕之, 三枝朋樹: 関税中央分析所報, **48**, 5 (2008).
- 3) 渡邊裕之, 三浦誠, 三浦徹, 三枝朋樹: 関税中央分析所報, **48**, 13 (2008).
- 4) 山崎幸彦, 緋田敬士, 隅野隆永: 関税中央分析所報, **48**, 61 (2008).
- 5) 三浦徹, 片山貴之, 三枝朋樹: 関税中央分析所報, **49**, 29 (2009).
- 6) 隅野隆永, 山崎幸彦: 関税中央分析所報, **49**, 65 (2009).
- 7) 山崎幸彦, 行本剛, 隅野隆永: 関税中央分析所報, **49**, 77 (2009).
- 8) 隅野隆永, 榎本康敬: 関税中央分析所報, **50**, 109 (2010).
- 9) 赤崎哲也, 榎本康敬: 関税中央分析所報, **51**, 85 (2011).
- 10)(独)農林水産消費技術センター: ネギの原産国判別マニュアル (2005.2.3).
- 11)(独)農林水産消費技術センター: 黒大豆 (丹波黒) の原産国判別マニュアル (2007.2.23).
- 12)(独)農林水産消費技術センター: ショウガの原産国判別マニュアル (2007.7.31).
- 13)(独)農林水産消費技術センター: ニンニクネギの原産地判別マニュアル (2007.9.3).
- 14)(独)農林水産消費技術センター: コンブの原産地判別マニュアル (2008.11.4).
- 15) 上本道久: “ICP 発光分析・ICP 質量分析の基礎と実際—装置を使いこなすために” (2008).