

PIXE法を用いたりんごの産地判別法の開発

—種子・果梗・土壌中の元素組成の特徴—

木口 倫¹、齊藤勝美²、世良耕一郎³

¹秋田県立大学生物資源科学部
010-0195 秋田県秋田市下新城野字街道端西241-438

²エヌエス環境株式会社中央技術研究所
020-0122 岩手県盛岡市みたけ4-3-33
(現在：環境計測㈱ 612-8427 京都市伏見区竹田真幡木町28番)

³岩手医科大学サイクロトロンセンター
020-0173 岩手県岩手郡滝沢村滝沢字留が森348-58

1 はじめに

我が国では多くの食料を輸入に依存しているため、さまざまな国外産の農畜産物（食品）が市場に出回っている。国外産の農畜産物は国内産に比べ市場価値が低いいため、産地偽装の対象になりやすく、国外産の農畜産物を国内産と表示して高値で市場取引を行うといった悪質なケースがしばしば報道され、大きな社会問題となっている。こうした産地偽装を防ぐために、科学的な手法を用いた産地判別技術の開発が求められている。産地判別技術は、これまで、DNA型¹⁾、有機成分²⁾、安定同位体比³⁾、無機元素組成⁴⁾⁹⁾等を用いた種々の方法が検討、開発されている。野菜や果物のような農産物の場合、主として農産物が生育した土壌中の元素組成の差異が農産物に反映されることに着目した方法が検討されており、コーヒー⁴⁾、茶⁵⁾、ジャガイモ⁶⁾、コム⁷⁾等を対象とした研究が報告されている。しかし、生果物を対象とした例は少なく^{8, 9)}、未だに実用に耐えうる技術は確立されていない。

本研究では、PIXE法を用いたりんごの実用的な産地判別法の開発を目指して、りんご品種の「ふじ」を対象に、りんご果実の種子と果梗（へた）、およびその土壌中の元素組成を比較、検討している。既報¹⁰⁾では、秋田県内の2か所のりんご産地から採取した土壌中の元素の特徴（種類と濃度レベル）について検討した結果を報告した。ここでは、既報で検討した土壌中の元素組成および「ふじ」のりんご果実の種子・果梗中の元素組成の特徴を比較するとともに、種子・果梗中の元素の特徴について検討した結果を報告する。

2 方法

2.1 試料採取

「ふじ」のりんご果実の採取は、2009年10～11月に、秋田県内のりんご産地の鹿角市および横手市内のりんご園地内で行った。具体的には、「ふじ」の栽培エリア1箇所を代表する3本の樹を選択し、1樹10果のりんご果実をそれぞれ採取した。採取したりんご果実は、実験室に持ち帰り、調製までの間、10℃以下で保存した。

2.2 試料調製

採取したりんご果実の種子と果梗の取り出しは次のとおりに行った。まず、取り出しの際に種子と果梗を傷つけないように、りんご果実の梗窪（こうあ：へたの周囲のくぼみ部分）にステンレス円筒（直径4cm程度）を素手で押し込んだ後、りんご果実の周囲をナイフでおよそ8等分になるように切れ目を入れた。次に、切れ目に沿ってりんご果実を素手で解体し、種子と果梗を採取した。採取した種子と果梗は精製水と超純水を用いてそれぞれ数回洗浄後、風乾させた。風乾後の種子と果梗は、凍結乾燥器を用いて2日間さらに乾燥したものをそれぞれ調製試料とした。

2.3 PIXE分析

りんご果実の種子と果梗の調製試料は、採取した3本の樹ごとに分別して混合し、混合した試料から種子では約10粒/樹、果梗では3~4個/樹をそれぞれ分取した。分取した試料を個別に液体窒素と乳鉢で粉碎後、硝酸灰化法¹¹⁾を用いて分解、調製したものをPIXE分析に供した。検出された元素のうち、測定精度が満足できた元素を分析値として採用し、各元素の定量値を算出した。

3 結果と考察

3.1 土壌と種子および果梗中の元素濃度の特徴比較

りんごの栽培土壌中の元素と同じ栽培エリアの代表樹から採取したりんご果実の種子および果梗中の元素との濃度の特徴を比較するため、Figure 1に表層土壌中から定量された元素¹⁰⁾ とりんご果実の種子および果梗中から定量された元素との平均濃度の関係を示す。土壌中から定量された元素の濃度レベルは鹿角および横手ともに $10^1 \sim 10^5$ のオーダー、種子および果梗中から定量された元素の濃度レベルは $10^1 \sim 10^4$ のオーダーであった。種子および果梗中で定量された元素のうち、K、Ca、Mg、Naの濃度レベルは $10^2 \sim 10^4$ のオーダーで、土壌と同じく種子および果梗中でも高かった。一方、種子および果梗中のCr、Mn、Cu、Zn、Br、Rb、Srなどの濃度レベルは $10^1 \sim 10^2$ のオーダーで、土壌と同じく種子および果梗中でも低かった。同様の傾向は鹿角および横手の両方の試料でみられた。これらことから、本研究で採取した「ふじ」のりんご果実の種子および果梗中の元素濃度の結果は、栽培された土壌中の元素濃度を反映したものであると考えられる。土壌中では比較的高い濃度レベルを示したSi、Al、Fe、Ti ($10^3 \sim 10^5$) については、種子および果梗中ではKやCaよりも低い濃度レベルで ($10^1 \sim 10^3$)、他の元素と異なる特徴を示した。これらの元素は落葉樹の樹皮や葉中には濃縮されにくいことが報告されており¹²⁾、土壌中の元素濃度が種子および果梗中に反映されにくかったものと考えられる。また、既報¹⁰⁾ では各産地の土壌に特有の元素として鹿角の土壌試料ではVおよびY、横手の土壌試料ではMoおよびBaが定量されたが、これらの元素は種子および果梗中ではBaを除いて不検出であった。したがって、これらの元素は土壌中では特徴的な元素であっても、りんご果実の種子および果梗中には濃縮されにくい元素であると推察される。

3.2 種子および果梗試料中の元素の特徴

種子および果梗中の元素濃度の定量結果をTable 1に示す。種子では、鹿角の試料から18種類の元素（Na、Mg、Al、P、S、K、Ca、Ti、Cr、Mn、Fe、Cu、Zn、As、Se、Br、Rb、Sr）、横手の試料から16種類の元素（Na、Mg、Al、Si、P、S、K、Ca、Ti、Cr、Mn、Fe、Cu、Zn、Rb、Sr）が定量された。一方、果梗では、鹿角の試料から18種類（Na、Mg、Al、Si、P、S、K、Ca、Ti、Cr、Mn、Fe、Ni、Cu、Zn、Br、Rb、Sr）、横手の試料から20種類の元素（Na、Mg、Al、Si、P、S、K、Ca、Ti、Cr、Mn、Fe、Ni、Cu、Zn、Br、Rb、Sr、Ba、Hg）が定量された。ほぼ1000 $\mu\text{g/g-dry}$ か、それ以上高い濃度で定量された元素は、種子ではMg、P、S、K、Caの5種類、果梗ではKおよびCaの2種類であった。その他の元素の多くは1000 $\mu\text{g/g-dry}$ よりも1桁以下の低い濃度であった。種子と果梗で定量された元素の平均濃度比をみると、Na、Mg、P、S、Mn、Fe、Cu、Zn、Br、Rbの濃度比は1以上、Al、K、Ca、Ti、Srの濃度比は1より小さく、定量された多くの元素で果梗に比べ種子で元素の濃度が高かった。また、元素濃度のばらつき（相対標準偏差：RSD)については、種子ではNa、Mg、Al、Si、Ti、Cr、Rbの7種類、果梗ではNa、Mg、Al、Si、P、Ti、Cr、Mn、Ni、Cu、Zn、Srの12種類の元素が鹿角および横手の両方もしくはどちらか一方でばらつきが大きく (>20%)、種子より果梗でその

傾向が強かった。類似の傾向は同じ生果のニホンナシ(二十一世紀)の種子および果梗でも報告されており⁸⁾、種子に比べ果梗の方が元素濃度の差が大きくあらわれやすいものと考えられる。また、産地間でみると、ばらつきの差は種子ではNa、Al、Ti、Zn、Rb、Sr、果梗ではNa、Al、P、Ti、Cr、Mn、Ni、Zn、Srで大きかった。特に、Cr、Ni、Rb、Srは、植物に必須の元素や土壌中の元素濃度が種子および果梗中に反映されにくい元素でもなく、施肥や土壌改良資材によって人為的に投入される可能性は低い。したがって、これらの元素は産地間の元素濃度の特徴を反映しているものと推察され、産地判別に寄与する元素であると考えられる。

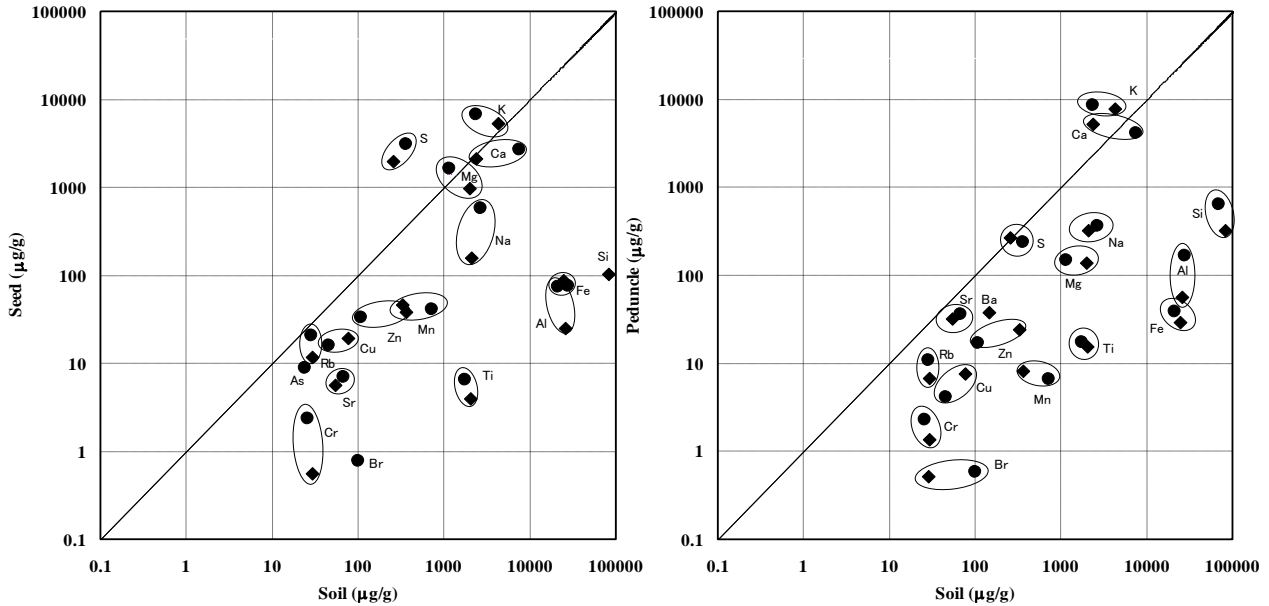


Figure 1 Relationship between element concentrations in soils^{Ref.10)} and in seeds and peduncles.

Kazuno: ●, Yokote: ◆

Table 1 Element concentrations of seeds and peduncles from Kazuno and Yokote.

Element	Concentration (µg/g-dry)										Concentration Ratio (Seed/Peduncle)			
	Seed					Peduncle					Kazuno	Yokote		
	Kazuno		Yokote			Kazuno		Yokote						
Mean	%RSD	Range	Mean	%RSD	Range	Mean	%RSD	Range	Mean	%RSD	Range			
Na	578	109	207 - 1310	160	22	121 - 190	366	9.2	327 - 389	326	33	255 - 449	1.58	0.49
Mg	1640	15	1492 - 1920	966	22	823 - 1210	149	35	92.4 - 194	139	29	115 - 185	11.01	6.95
Al	76.6	74	32.8 - 141	25.2	33	19.3 - 34.8	167	41	104 - 239	56.7	60	23.3 - 91.1	0.46	0.44
Si			ND	103	64	27.6 - 145	650	37	423 - 905	325	45	181 - 474	-	0.32
P	5040	7.9	4740 - 5490	3590	19	3120 - 4380	484	27	382 - 633	703	7.2	650 - 751	10.41	5.11
S	3140	16	2610 - 3580	1990	18	1680 - 2370	237	20	182 - 270	270	8.8	256 - 298	13.25	7.37
Cl			ND			ND			ND			ND	-	-
K	6850	9.8	6190 - 7540	5330	8.0	4950 - 5800	8610	9.2	7770 - 9360	7880	1.2	7810 - 8000	0.80	0.68
Ca	2710	20	2140 - 3230	2150	13	1850 - 2420	4140	3.9	4030 - 4330	5200	4.9	5030 - 5490	0.65	0.41
Ti	6.58	98	1.68 - 13.9	4.02	41	2.11 - 5.11	17.3	2.5	17.0 - 17.8	15.7	22	11.7 - 17.7	0.38	0.26
V			ND			ND			ND			ND	-	-
Cr	2.35	55	1.27 - 3.78	0.555	-	ND - 0.635	2.29	51	0.977 - 3.25	1.38	29	1.01 - 1.81	1.02	0.40
Mn	40.8	17	34.8 - 48.1	38.6	11	36.0 - 43.4	6.63	80	2.76 - 12.7	8.20	44	5.70 - 12.3	6.15	4.71
Fe	74.6	15	66.7 - 87.0	87.1	15	72.2 - 96.1	38.8	10	34.4 - 41.5	29.2	8.6	26.4 - 31.2	1.92	2.98
Ni			ND			ND	0.860	60	0.530 - 1.45	0.777	27	0.547 - 0.951	-	-
Cu	16.0	14	13.8 - 18.3	19.4	14	16.7 - 22.3	4.13	34	2.78 - 5.56	7.64	27	6.01 - 9.91	3.87	2.54
Zn	33.3	9.8	29.6 - 35.7	46.1	20	37.2 - 55.8	17.1	9.7	15.2 - 18.2	24.1	33	15.4 - 30.5	1.95	1.91
Ga			ND			ND			ND			ND	-	-
As	8.80	-	ND - 13.3			ND			ND			ND	-	-
Se	0.846	-	ND - 1.47			ND			ND			ND	-	-
Br	0.789	-	ND - 1.29			ND	0.580	-	ND - 0.892	0.526	-	ND - 0.725	1.36	-
Rb	21.0	21	17.6 - 26.0	11.7	7.0	10.9 - 12.6	10.9	15	9.00 - 11.9	6.73	-	ND - 8.02	1.93	1.74
Sr	6.95	19	5.49 - 7.98	5.62	1.7	5.51 - 5.70	36.0	22	30.6 - 44.9	32.6	6.9	31.30 - 35.2	0.19	0.17
Y			ND			ND			ND			ND	-	-
Zr			ND			ND			ND			ND	-	-
Nb			ND			ND			ND			ND	-	-
Mo			ND			ND			ND			ND	-	-
Ba			ND			ND			ND	38.1	12	35.2 - 43.5	-	-
Pb			ND			ND			ND			ND	-	-
Hg			ND			ND			ND	0.580	-	ND - 0.737	-	-

RSD (%): Relative standard deviation, "ND": Not calculated.

謝辞 本研究は、平成21年度社団法人日本アイソトープ協会滝沢研究所の研究助成を受けて実施しました。ここに深く感謝申し上げます。また、本研究を行うにあたり、りんご園地内の土壌およびりんごの採取等に多大なるご協力、ご助言を賜りました秋田県農林水産技術センター果樹試験場本場および鹿角分場の職員の方々、PIXE分析での試料調製等にご協力、ご助言を賜りました日本アイソトープ協会仁科記念サイクロトロンのスタッフ、職員の方々に深謝します。

参考文献

- 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) Hernandez, B., Castellote, A.I., Permanyer, J.J., Triglyceride analysis of cocoa beans from different geographical origins. Food chemistry, 41, 269-276 (1991).
- 3) Angerosa, F., Breas, 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).
- 4) Anderson, K.A., Smith, B.W., Chemical profiling to difference geographic growing origins of coffee. J. Agric. Food Chem., 50, 2068-2075 (2002).
- 5) 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).
- 6) 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).
- 7) 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).
- 8) 井上博道, 梅宮義章, 喜多正幸: ニホンナシ‘二十世紀’の果実中元素濃度を用いた産地判別, 日本土壌肥料学会誌, 78, 567-571 (2007).
- 9) 井上博道, 梅宮善章, 喜多正幸, 羽山裕子, 中村ゆり: リンゴ「ふじ」の果梗および種子中元素濃度を用いた日本産と外国産との判別, 日本土壌肥料学会誌, 80, 583-588 (2009).
- 10) 木口 倫, 齋藤勝美, 世良耕一郎: PIXE法を用いたりんごの産地判別法の開発—産地土壌中の元素の特徴—, NMCC共同利用研究成果報文集, 16, 177-181 (2009).
- 11) 世良耕一郎, 後藤祥子, 高橋千衣子, 齋藤義弘, 寺崎一典, 佐々木敏秋, 伊藤じゅん, ニッ川章二: NMCCのPIXEで定量分析可能な試料-えっ? こんな試料でも分析できるの?-, NMCC共同利用研究成果報文集, 16, 36-53 (2009).
- 12) 寺島 滋, 今井 登, 太田充恒, 岡井貴司, 御子柴真澄: 関東平野南部における土壌の地球化学的研究—土壌地球化学図の基礎研究 (第5報) 総括 一, 地質調査研究報告, 55, 1-18 (2004).

Method development for identification of geographical origin of Japanese apples by PIXE analysis - Characteristics of element compositions in seeds, peduncles, and soils from apple producing regions

O.Kiguchi¹, K.Saitoh² and K.Sera³

¹Bioresource Science, Akita Prefectural University
241-438 Kaidobata-nishi, Shimoshinjo-nakano, Akita 010-0195, Japan

²Central Technical Research Institute, NS Environmental Science Consultant Corporation
4-3-33 Mitake, Morioka, Iwate 020-0122, Japan
Present affiliation: Eco Analysis Corporation,
28 Takeda-amahataki-cho, Fushimi-ku, Kyoto 612-8427, Japan

³Cyclotron Research Center, Iwate Medical University
348-58 Tomegamori, Takizawa, Iwate 020-0173, Japan

Abstract

We studied characteristics of element in seeds, peduncles, and soils from apple producing regions to develop method for identification of geographical origin of Japanese apples by PIXE analysis. Seeds and peduncles from apple fruits of Japanese 'Fuji' apples were examined in this study. Apple fruits for this study were collected from Kazuno and Yokote cities that were apple producing regions in Akita Pref. in Japan. Concentration ranges of seeds and peduncles in apple fruits were 10^{-1} to 10^4 . Concentration levels of elements in soils from kazuno and yokote were clearly contributed to those in seeds and peduncles. Element compositions and their concentration levels of soils and those of seeds and peduncles in apple fruits resembled each other. The following elements were respectively determined from seeds and peduncles in both or either Kazuno and Yokote samples: "Na, Mg, Al, Si, K, Ca, Ti, Cr, Mn, Fe, Cu, Zn, As, Se, Br, Rb, Sr"; "Na, Mg, Al, Si, K, Ca, Ti, Cr, Mn, Fe, Cu, Zn, As, Se, Br, Rb, Sr, Ba, Hg". Both samples in Kazuno and Yokote were rich in "Mg, P, S, K, Ca" ($\geq 1000 \mu\text{g/g-dry}$). Other element concentrations were lower than those elements. Except for exceptions, those elements concentrations in seeds were clearly higher than those in peduncles. Relative standard deviations of Na, Mg, Al, Si, Ti, Cr, Rb for seeds and those of Na, Mg, Al, Si, P, Ti, Cr, Mn, Ni, Cu, Zn, Sr for peduncles were much higher than those in other elements ($>20\%$). We conclude that Cr, Ni, Rb and Sr could be contributed to identification of geographical origin of Japanese apples by PIXE analysis.