

エタノール・農産物等の同位体組成に関する調査研究

<原材料・原産地評価のための適切なデータベース因子の抽出に関する研究>

報 告 書

令和 5 年 3 月

一般社団法人日本海事検定協会

(理化学分析センター)

目次

| | | |
|-----------|-------|---|
| 1. はじめに | | 1 |
| 2. 背景 | | 1 |
| 3. 研究目的 | | 2 |
| 4. 分析サンプル | | 2 |
| 5. 分析方法 | | 3 |
| 6. 分析結果 | | 4 |
| 7. 総括 | | 8 |

エタノール・農産物等の同位体組成に関する調査研究

＜安定同位体比を用いたハチミツの産地、原料花判別の研究＞

＜味覚センサーを併用した酒類の原料・産地判別の可能性について＞

1. はじめに

安定同位体比分析装置を用いた研究として、これまで食の安心安全をテーマとした「食品の原材料/原産地識別」あるいは「食品の天然/養殖/化学合成品の判定」を行ってきた。近年輸入量が増加傾向にあるハチミツは産地・原料花が多様化する傾向にあり、加えてミツバチの世界的減少にともない価格は高騰している。その為、今年度は国内で安定的に需要を維持しているハチミツについて、昨年に引き続き産地判別に安定同位体比分析が適用できるかをテーマとしデータの収集を行った。

2. 背景

(1) ハチミツの有用性と我が国への輸入量の推移

ハチミツはその栄養価の高さから、様々な健康効果が期待されており、疲労回復、殺菌効果、美容効果等、効果・効能は多岐に渡る。ハチミツを使用することは消費者へのイメージも良く、健康食品や美容関連製品にも多く使用されている。国産品をはじめ、様々な国でハチミツが精製され流通しており、とりわけアジアの山間部では貴重な収入源として多く生産されている。日本が輸入する生産国としては中国、アルゼンチン、カナダ等様々であり、最近ではベトナムやミャンマーなど少量しか生産されない地域の物が高付加価値化され輸入されている。この傾向は北米やヨーロッパなど先進各国でも顕著で、各産地の原蜜が取り合いになっている状態が続いている。

しかしながら近年では、ミツバチの原因不明の病気や異常気象によるミツバチの活動量の低下により、世界的に採取量が減少している。そのため、いち早く新蜜が出回るアルゼンチンでは原蜜の買い付けが集中して品薄になる傾向がこの数年続いている。

新型コロナ禍のなか需要を伸ばした国内市場は一段落したものの、依然として高い水準で消費されていることから、公正な取引のため原産地に係るハチミツのデータ収集は非常に意義のあるテーマだと考えられる。

(2) 加糖ハチミツによる偽装問題

以前よりハチミツにある割合で混合物を加える偽和ハチミツが増加していることがしばしば問題となっている。ハチミツの表示には、「加糖ハチミツ」というカテゴリーがあり、純粋ハチミツに対し異性化糖等を加えたものを称する。液糖価格がハチミツより安いことから、本物のハチミツに液糖を混ぜて加量し、「加糖ハチミツ」の表示を行わない輸入品も存在する。液糖はでん粉から作られるブドウ糖や転化糖が利用される傾向にあり、現在は異性化糖が主要な偽和物となっている。

異性化糖に関する偽和検査法は複数確立されており、日本では薄層クロマトグラフィによる方法がとられているが、海外では **Official Methods of Analysis of AOAC International(Horwitz, 2006)**に掲載されている炭素安定同位体比による検査が広く実施されている。

(3) 炭素安定同位体比

自然界には安定的に存在する炭素の同位体が存在している。原子の中に中性子を 6 個持つ ^{12}C と 7 個持つ ^{13}C はいずれも安定で、存在比は 98.9% と 1.1% である。植物には、光合成で炭酸ガスから糖を生成する際に二つの同位体を分け隔てなく使う「C4 植物」と軽い方を選別して使う「C3 植物」がある。砂糖の原料となるサトウキビや、異性化糖の原料となるトウモロコシ等は C4 植物である一方、その他多くの植物は C3 植物である。したがってハチミツは通常 C3 植物の炭素安定同位体比を示す。純粋なハチミツにトウモロコシを原料とした異性化糖を加えると同位体比が C4 植物の傾向に動く。この原理を利用してハチミツの糖を構成する炭素安定同位体比調べ、異性化糖の存在を検出することが可能である。

(4) 安定同位体比分析から産地判別へ

安定同位体比を利用した産地判別は多くの食物に応用されている。炭素安定同位体比を利用した異性化糖の検査では、糖を生成する植物の特徴を利用してその添加濃度を算出するものであり、ハチミツの蜜源である植物が違えば、それぞれの植物の特徴が見られると考えられる。

ハチミツの異性化糖を検査していく中で、ハチミツの原産地と花の種類によってデータベースを作成し、安定同位体比分析がハチミツの産地判別に活用できることが期待でき、産地偽装等への検査にも繋がると考えた。また、同時に測定可能な窒素安定同位体比を補完することで比較精度を上げることが期待され、ハチミツについて炭素安定同位体比と窒素安定同位体比によるデータベースを作成し、産地判別へ活用できるかを検討するものとした。

(5) 味覚センサーによる味情報の分析

安定同位体比のデータベースを作成することで産地判別の可能性が広がる一方で、植物であれば生育土壌や降雨の影響により同位体比が一定と成り得ない可能性もあり、安定同位体比単体での産地判別は難しい面も生じている。これらを補完するためには ICP-MS による微量金属分析や遺伝子解析を利用する方法が挙げられているが、どちらも操作が煩雑であり高額な機器を必要とするため、より簡便に利用できる手法と組み合わせることが理想である。そこで、安定同位体比のデータを取得するとともに味覚センサーによる産地判別の可能性を模索する。

味覚についてはこれまで官能評価が主流であったが、センサーの発達により味の客観判別が可能となり微妙な味の違いを数値化で差異を出すことができるようになった。この技術を用いて複数のデータを合わせることでより精度の高い産地判別ができることを期待している。

3. 研究目的

本研究では、ハチミツの産地を判別するための手法として EA/IRMS 法による炭素・窒素安定同位体比測定の有効性を明らかにするため、生産国別・原料花別の傾向を比較した。味覚センサーを用いた検討では、当分析センターで 2013 年に測定した安定同位体比データを元に同じ種類・銘柄の酒類を測定し、客観的判別が可能かどうか検討を行った。

4. 分析サンプル

4-1. ハチミツの安定同位体比

準備したハチミツは生産国別の集計で、中国産 86 種、国産 20 種、カナダ産 19 種、ミャン

マー産 18 種、ハンガリー産 12 種、アルゼンチン産 8 種、ニュージーランド産 4 種、リトアニア産・ベトナム産・タイ産各 2 種、ウクライナ産・メキシコ産・ブルガリア産・ルーマニア産各 1 種の計 177 種類のサンプルを使用した。

原料花別での集計で、アカシア 34 種、ヒマワリ 10 種、レンゲ 9 種、クローバー 5 種、ライチ 3 種、ソバ 3 種、シナ 2 種、ラベンダー・リンゴ各 1 種、ホワイト 44 種、ELA 28 種、百花蜜 13 種の計 153 種類について解析を行った。

※ホワイト、ELA 及び百花蜜に関しては花の種類は特定できない

4-2. はちみつの味覚センサー測定

今回新たな取り組みとして、はちみつ安定同位体比による産地特定を補完するデータとして生産国別に味覚センサーによる測定を行った。生産国別に酸味、塩味、旨味に限定して測定を行い、国産のブレンド品と比較した。

4-3. 酒の味覚センサー測定

当分析センターでは過去、酒類の安定同位体比を測定し報告している（2015 年）。今回の検討では当時と同じ銘柄の国産蒸留酒について、産地別に濃醇感と熟成感について分析を行った。（表 1 及び 2）。測定結果は宮崎産甲種焼酎を比較基準として各サンプルの味覚を数値化し解析した。

表 1. 蒸留酒の産地別内訳

| No. | 産地 | 検体数 |
|-----|------|-----|
| 1 | 北海道 | 4 |
| 2 | 福岡県 | 1 |
| 3 | 熊本県 | 1 |
| 4 | 大分県 | 12 |
| 5 | 宮崎県 | 8 |
| 6 | 鹿児島県 | 25 |
| 7 | 沖縄県 | 32 |
| | 合計 | 83 |

5. 分析方法

5-1. EA/IRMS 法による炭素・窒素安定同位体比測定

ハチミツを未処理で測定すると炭素安定同位体比は得られるが、窒素安定同位体比が得られない。そのため、AOAC 法に従いハチミツから抽出したタンパク質を試料とし、EA/IRMS で炭素安定同位体比及び窒素安定同位体比を測定した。

5-2. 味覚センサーによる測定

はちみつ及び酒類サンプルを、脂質膜型味覚センサー TS-5000Z（株式会社インテリジェントセンサーテクノロジー社製）で測定した。はちみつは 10 倍希釈、アルコール分 20% 以上の酒類サンプルは測定可能範囲まで適宜希釈し、測定を行った。

6. 分析結果

6-1 EA/IRMS 法による炭素・窒素安定同位体比（産地別測定）

ハチミツの炭素・窒素安定同位体比について、生産国別の比較を Fig 1 に纏めた。

今年度測定した試料では、 $\delta^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ は $-28.163 \sim -23.754$ ‰ の範囲に、 $\delta^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ は $1.294 \sim 9.830$ ‰ の間にプロットされた。

生産国別に比較したところ、中国産において $\delta^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ は幅広く全域に広がっており、 $-27.0 \sim -26.0$ ‰ 付近に偏りが見られ、 $\delta^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ は $0.5 \sim 3.0$ ‰ の範囲に分布していた。 $\delta^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ の分布が他国産よりも明らかに低く、特徴的な分布を示した。この傾向は昨年と同様であった。

カナダ産では $\delta^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ $-28.555 \sim -25.254$ ‰、 $\delta^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ は $2.087 \sim 8.524$ ‰ の範囲に分布し、一部偏りが認められた。近年輸入が増加しているミャンマー産では $\delta^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ $-27.998 \sim -25.288$ ‰、 $\delta^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ $1.294 \sim 9.830$ ‰ の範囲であり、 $\delta^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ が低めかつ $\delta^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ が高めに測定される傾向が見られた。

ハンガリー産は $\delta^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ $-25.836 \sim -24.481$ ‰、 $\delta^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ は $3.064 \sim 4.847$ ‰ と限られた範囲に偏っており特徴的な分布を示していた。その他産地は検体数が少ないため引き続き検討が必要である。

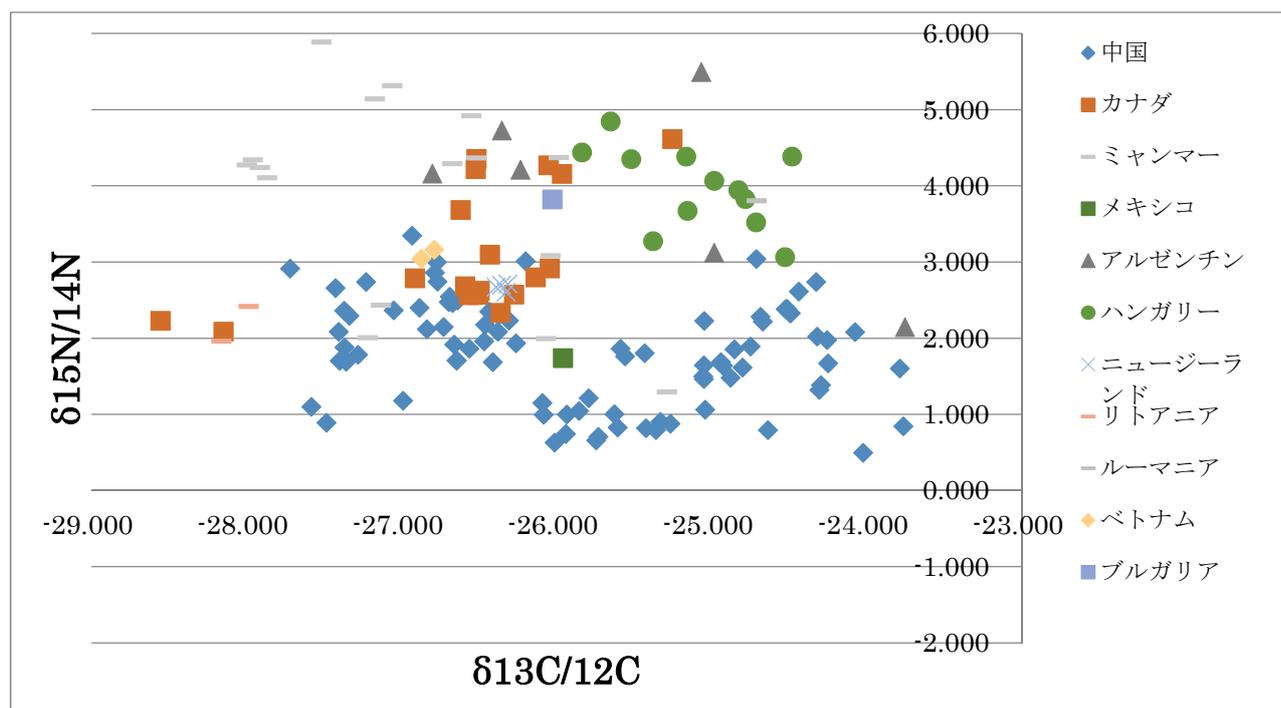


Fig 1. 生産国別の炭素・窒素安定同位体比

6-2 EA/IRMS 法による炭素・窒素安定同位体比（原料花の種類別）

原料花の種類別の炭素・窒素安定同位体比を Fig 2 に纏めた。

今回測定した試料の中ではアカシアが最も多く、測定範囲は $\delta^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ $-25.165 \sim -23.786$ ‰、 $\delta^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ は $0.496 \sim 4.387$ ‰ であった。次いで多かったヒマワリにおいては、 $\delta^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ $-27.998 \sim -26.070$ ‰、 $\delta^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ $1.998 \sim 9.83$ ‰ であった。レンゲについては $\delta^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ は $-27.718 \sim -25.587$ ‰、 $\delta^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ は $1.860 \sim 2.916$ ‰ となり、昨年と比較するとアカシアで同様の傾向を示

した。

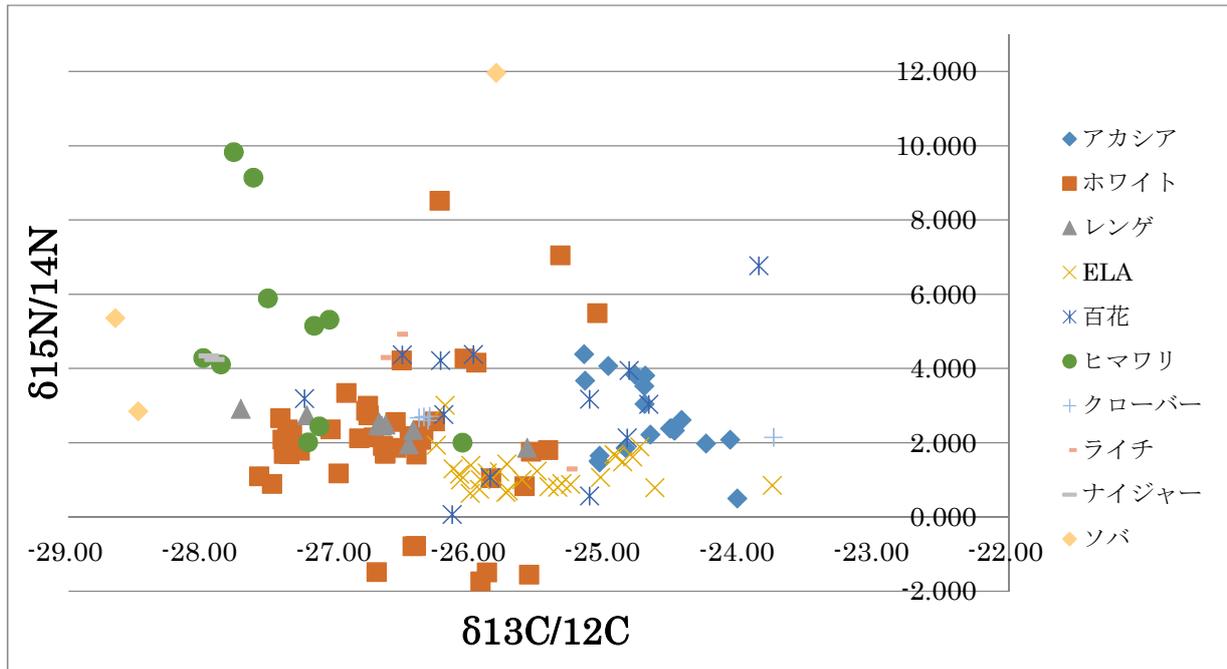


Fig 2. 花の種類毎の炭素・窒素安定同位体比

6-3 はちみつの味覚センサーによる測定

はちみつの味覚センサーについて、生産国別の測定結果を平均して比較したところ、酸味について特徴が出る傾向が認められた。(Fig.3)。

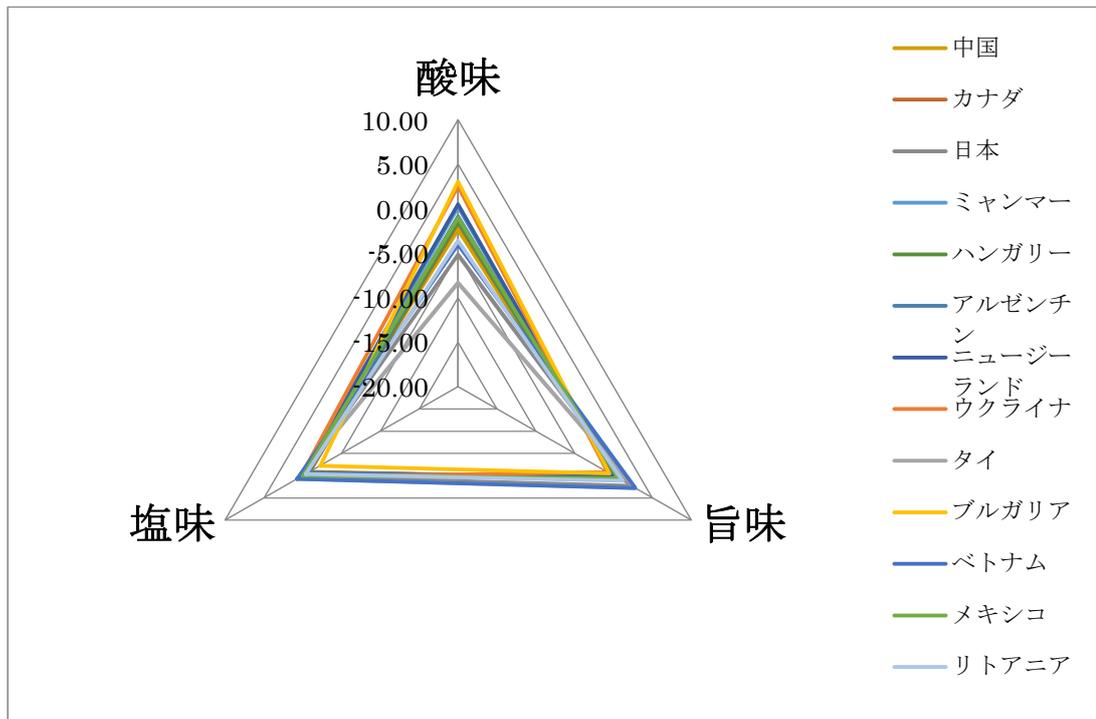


Fig.3 はちみつの生産国別の比較 (酸味×塩味×旨味)

試料数の多い中国、カナダ、ミャンマー及び国産について生産国別に同様の解析を行ったところ、酸味について中国及び国産については試料間の差が大きく、一方でカナダ及びミャンマーでは一定である傾向が見られた。(Fig.4-1~4)

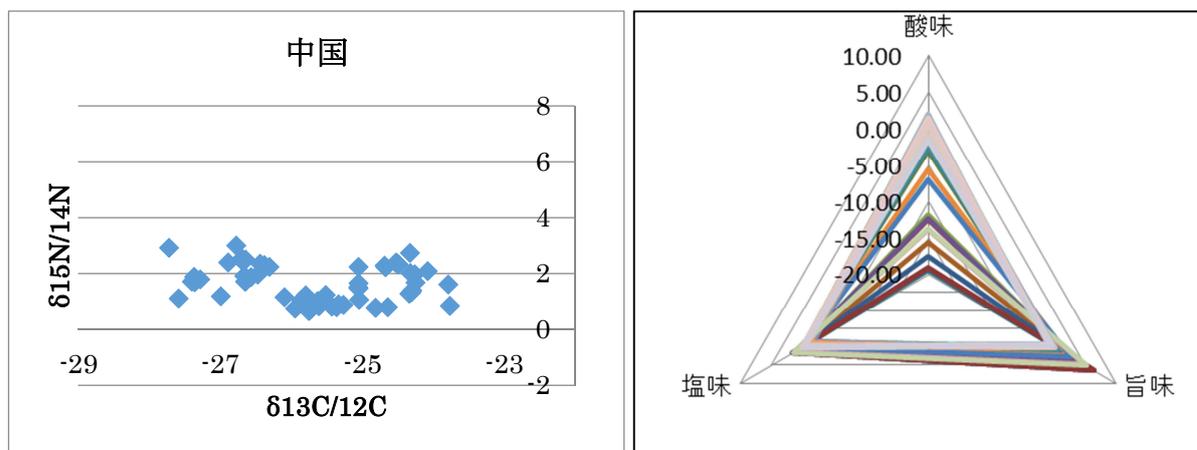


Fig.4-1 同位体比-味覚センサー（中国）

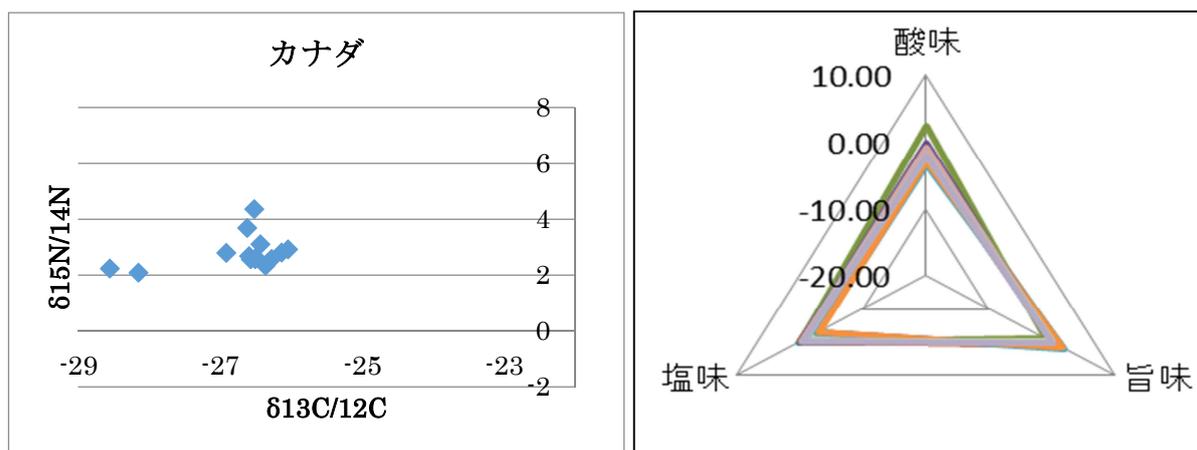


Fig.4-3 同位体比-味覚センサー（カナダ）

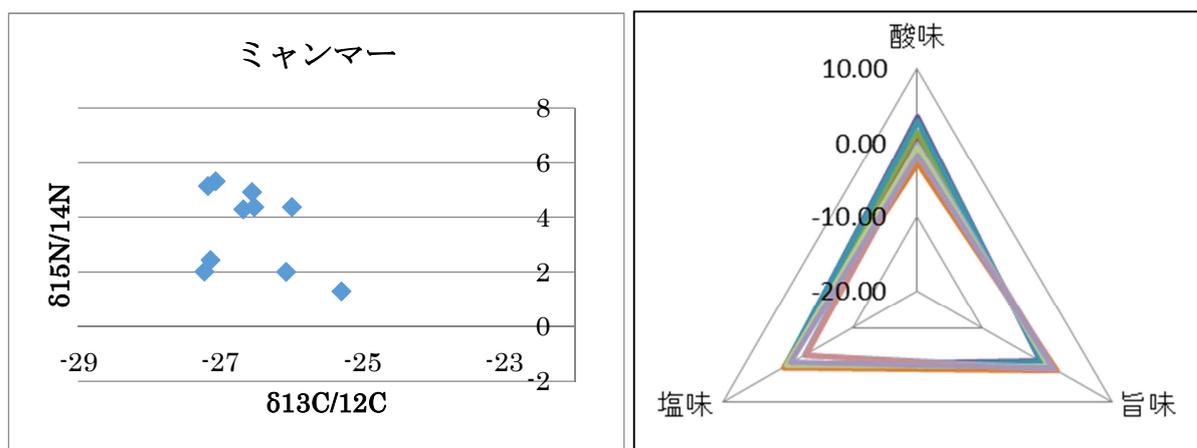


Fig.4-3 同位体比-味覚センサー（ミャンマー）

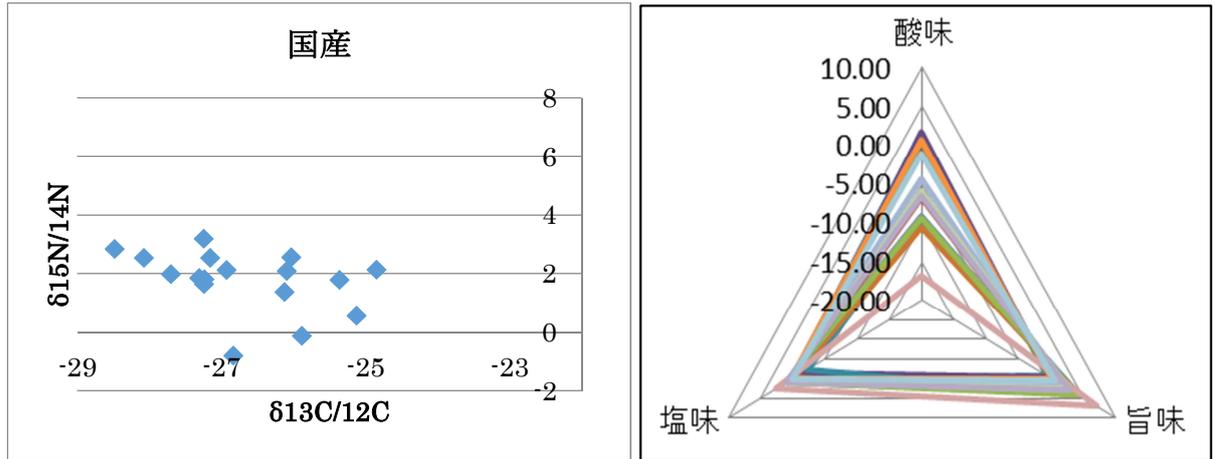


Fig.4-4 同位体比-味覚センサー（国産）

原料花の違いを平均値で比較したところ、多くの原料では差が見られなかったものの、ラベンダーでは酸味が強く塩味が弱い傾向が、シナは酸味が非常に弱く若干塩味が強い傾向にあった。特にシナの酸味の差は他種と比較して大きいものであった。

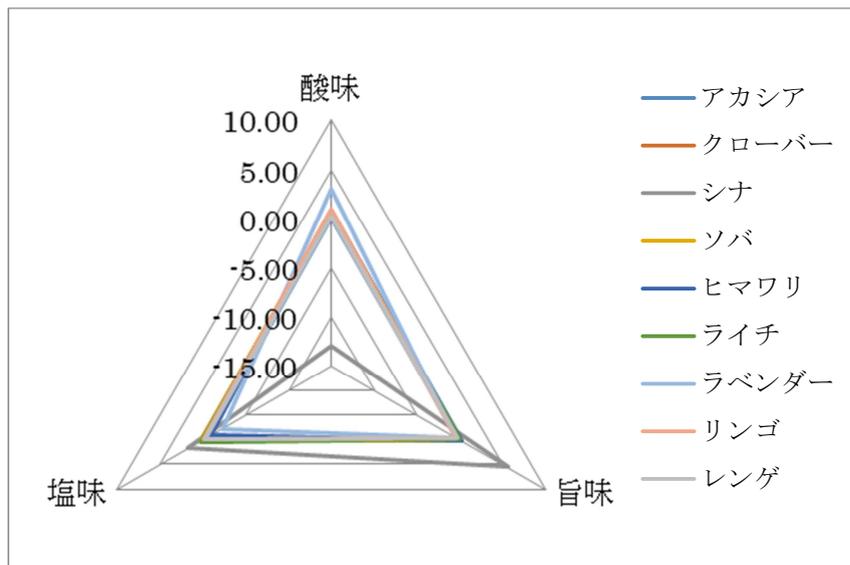


Fig.5 原料花別の測定結果

6-4. 酒類の味覚センサーによる測定

味覚センサーを用いて各地の酒類サンプルを測定した結果、沖縄産では濃醇感・熟成感ともにプロット範囲が全体に広がる傾向が見られた。一方で、大分産、鹿児島産、宮崎産では産地ごとに比較的まとまっており、生産地における傾向が見て取れた。中でも大分産では濃醇感・熟成感ともに弱めであると判定された。(Fig.6)

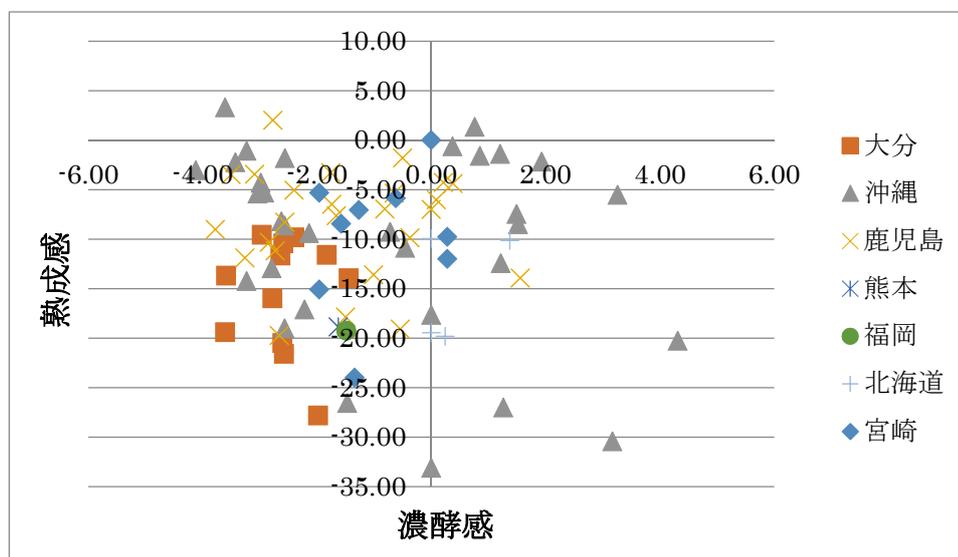


Fig.6 蒸留酒の産地別測定結果

7. 総括

7-1. EA/IRMS 法による炭素・窒素安定同位体比

ハチミツの安定同位体比を国別で比較したところ、中国産では $\delta^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ 値が幅広くプロットされるものの、 $\delta^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ は他国産よりも値が低く、狭い範囲に集中する傾向が見られた。昨年のデータでも同様の傾向が見られ、中国産のハチミツにおいて $\delta^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ に注目した場合、他国産と区別されることが示唆された。ハンガリー産についてもプロット表の特定領域に偏る傾向が見られ、昨年のデータとも一致している。一方で、カナダ産及びアルゼンチン産は昨年よりもばらつきが大きい結果となり、安定同位体単独の判定には慎重を期す必要がある。ここ数年検体数が増えてきたミャンマー産についてはプロット図の左上に偏る傾向が見られるため、比較的判定しやすい。

同じ生産国で原料花の異なる場合でも安定同位体比が同じ位置に集約するため、花の種類による差は少ないものと予想され、地域性を決定する要因は別にある可能性がある。ハチミツの同位体比は土壌や降雨など周囲の環境にも影響を受けるため、現段階では即判別可能とは言い切れないものの、はちみつそのものではなく、抽出タンパク質の $\delta^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ と $\delta^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ の結果を組合せることで生産国が推定できる可能性がある。引き続きサンプルを集めてデータを取得し、産地判別一役を担うデータを収集していく。(Fig.7)

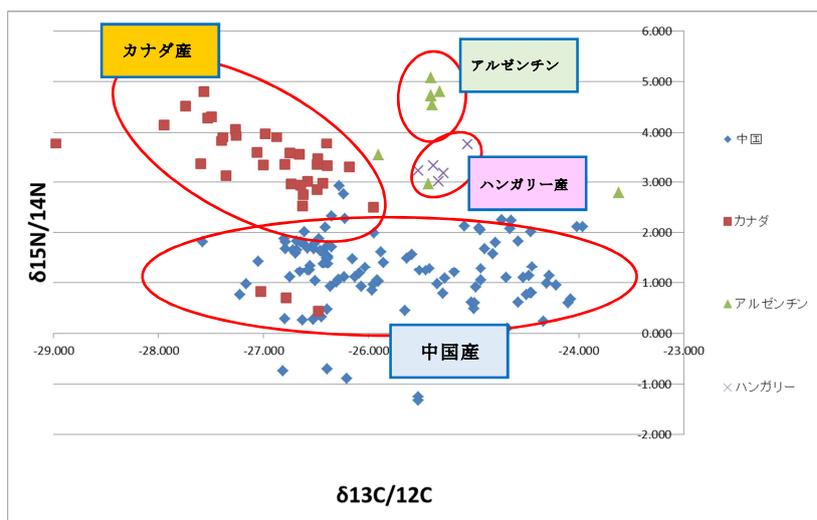


Fig.7-1 生産量上位国サンプルの安定同位体比（2021年度測定）

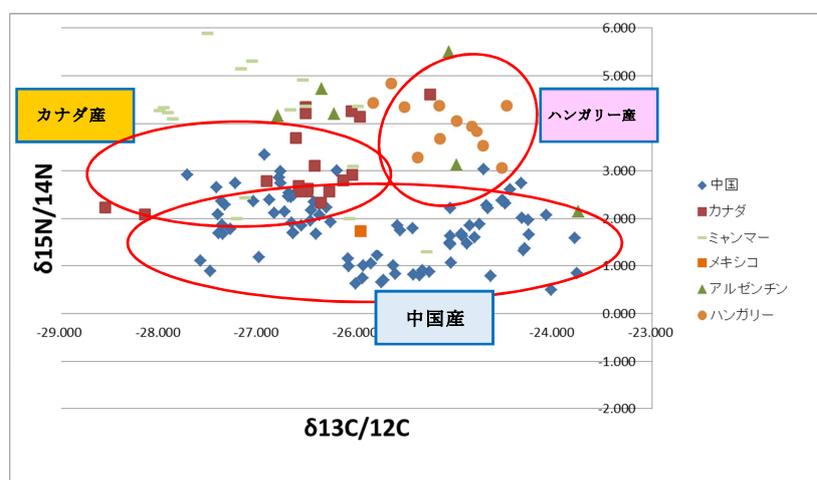


Fig.7-2 生産量上位国サンプルの安定同位体比（2022年度測定）

一方、味覚センサーを用いた結果では地域性や原料花について明確な差は取りにくいものの、原料としてのシナについては特徴的な結果が得られたため、特定の原料については応用できる可能性が示唆された。

ハチミツの安定同位体比測定は偽装ハチミツの偽和を判別する技術としても利用できることから、偽装防止・産地判別・原料判別の3方向からの判定ができればブランドや希少性を示すことができ有用性は高い。これまでの結果から、特定の国または原料について判別の可能性が示唆されていることから、今後もデータを積み重ね精度を上げる可能性を模索する。

7-2. 国産蒸留酒の味覚センサー測定

当分析センターで2015年に報告した安定同位体比測定では、酒類の炭素同位体比 ($\delta^{13}\text{C}$)、酸素同位体比 ($\delta^{18}\text{O}$) 及び水素同位体比 (δD) に注目したものである。酒類について①炭素×酸素プロット、②水素×酸素プロット及び③水素×炭素プロットで比較したところ、焼酎類について、①では九州地方(大分県/宮崎県/鹿児島県)で産地判別の可能性が見いだされた。また、②では使用する水の影響を受けるものと推測できる結果が得られ、③では特定の地域における判別が可能であることが示唆された。

本研究において宮崎産甲種焼酎と比較を行ったところ、同位体比測定と同様、九州地方（大分県／宮崎県／鹿児島県）についてそれぞれに偏りが見られ、データを組み合わせることで産地の判定できる可能性がある。醸造文化が根付く地域性から安定した品質で製造されていることがうかがえ、加えて水や穀物原料についても一貫して土地由来のものが使用されるなど、判定を行う上での不確定要素が少ないのも要因であると推測される。沖縄県産は2021年の別要素測定時と同様にばらつきが大きかった。これは醸造後熟成させることにより複雑な味わいを醸し出すことが判定に影響している可能性があり、引き続きデータを積み重ねる必要がある。

伝統手法を受け継ぐ醸造技術では、地域によりの好みや方向性が一致していることから、水源や原料穀物の由来が変わらなければ安定同位体比や味覚によって地域差を判定できることが期待される。

食品の産地判別はブランディングや付加価値にも繋がり、生産者にとって重要なものである。従来からいくつかの手法を組み合わせることによって精度を上げる必要性が研究されており、その一環として味覚センサーを利用することができれば、産地とともに客観的な味の判定も行うことができ利点は大きい。今後の研究においても引き続き味覚センサーを利用した原産地判別への応用を模索する。