

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

平成 26 年 3 月 31 日

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	3
2. 研究目的と背景	3
3. 年度別スケジュール	4
4. 年度別の成果	4
4-1 平成 23 年度の成果	4
4-2 平成 24 年度の成果	4
5. 平成 25 年度の研究内容	4
6. 研究成果の概要	5
7. 研究結果	7
7-1 【研究 A】 エタノールの原料・原産地判別	7
7-2 【研究 B】 飲料酒の安定同位体比による原料・原産地判別	12
7-3 【研究 C】 部位の違いによるトウモロコシの精度向上に関する研究	15
8. 総合所見	16
9. 文献	17
巻末資料	18

1. はじめに

わが国で食の安心安全が話題となる中、食品の産地偽装、ブランド偽装が後を絶たない。現在、原材料・原産地及び品種を明らかにするための分析手法として、遺伝子分析（DNA）及び金属元素分析による方法が確立されつつあるが、それぞれに短所と長所を抱えている。DNA分析は種別の特定に特化し、既に多くの農産物に適用されているが、原産地を特定することはできない。金属分析は原産地識別に用いられるが、加工食品には金属を含んだ食品添加物や強化剤が使われているため識別は困難である。

一方、安定同位体比分析は、半永久的に普遍的な安定同位体の存在比を求めることで食品の原料及び原産地を識別するものであり、軽元素同位体比¹は農産物が育った環境条件を反映するといわれ、DNA分析や金属分析では困難な原産地判別の可能性が期待されている。しかし、安定同位体比分析は、現在一部の研究機関や企業で研究されているものの、ほとんどの機関で材料及び原産地識別の実用化に至っているとは言えない。

2. 研究目的と背景

本研究は食の安心安全を確立するための策として、軽元素安定同位体比に着目し、材料及び原産地を識別するための手法の確立に資することを目的とし、エタノールと農産物を対象に分析を行った。

石油化学資源の危機や地球温暖化抑止対策として、需要が右肩上がりに伸びているバイオエタノールは、エタノール混合ガソリンとして政府が主体となって普及のための検証事業も行われているが、温暖化抑止の観点からして配合するエタノールはバイオ由来でなければならない。現在、ガソリンに混ぜるエタノールについては、原材料・原産地を明記した原産地証明書が必要であるが、根拠となるのが申請書類だけであるため、疑義が生じた場合に限って、理化学的手法による判別分析が必要となる。しかし、エタノールのように製造工程が複雑な貨物の詳細な原産地・原材料判別は難しく、研究実績は少ない²。

農産物については、いまだ偽装表示などの報道を耳にする。そこで消費者への安心安全のアピールとして生産者の名前や顔を包装に表示する取り組みや、トレーサビリティの導入等も増えているが、科学的根拠をもってそれを保証することは農産物を守ることに繋がる。実際に、コシヒカリなどのブランド農産物の産地判別に関する研究が安定同位体比によって行われている例がある³が、個々にデータベースが必要となる安定同位体比の事例はまだまだ少ないのが実状である。

¹ ここでの軽元素とは、水素 H、炭素 C、窒素 N 及び酸素 O を言う。

² 引用文献①（第 6 項参照）

³ 引用文献②（第 6 項参照）

3. 年度別スケジュール

年度	分類	エタノール	農産物
平成 23 年度	内容	海外産エタノールの原料・産地判別	種々の品目（落花生／桃／さくらんぼ／お茶／繊維／コーヒー／植物油）についての検討
	結果	アルコール原料の判別 (C3 植物・C4 植物・合成エタノール)	脱脂処理した落花生サンプルについて国内・海外の判別の可能性
平成 24 年度	内容	海外産エタノールの原料・産地判別	トウモロコシによる前処理の違いによる判別の有効性の検討
	結果	工場単位での判別の可能性 蒸留による同位体濃縮の可能性 測定方法の変更による精度の向上	未処理のサンプルについて産地判別の可能性
平成 25 年度	内容	海外産エタノールの原料・産地判別 飲料酒の産地判別	トウモロコシの部位ごとにおける同位体比の変動について
	結果	国産・海外産エタノールの原料・産地判別の精度の向上 飲料酒の産地判別の可能性	限定部位による精度向上

4. 年度毎の成果

4-1 平成 23 年度の成果

原料や原産地の異なるエタノールを収集し、炭素、酸素及び水素の同位体比を測定したところ、原料の違い（C3 植物、C4 植物、化学合成エタノール）を判別することが可能となった。

さらに、農産物の評価として落花生の産地判別を行うべく、落花生（可食部）の安定同位体比を測定したが、明確に産地判別することが出来なかった。そこで、脱脂後の落花生を測定サンプルとしたところ、産地判別の精度が向上したことから、測定する構成部位や組織・成分等を限定して分析することが有効であることが示された。

4-2 平成 24 年度の成果

東南アジア産の糖蜜由来エタノールの安定同位体比を測定し、国別及び工場別で比較した。また、製造原料であるサトウキビ、糖蜜、水の同位体比を測定し比較した。原料とエタノールとでは酸素及び水素の同位体比に明らかな差が確認され、製造工程における同位体比分別が最終製品であるエタノールに影響していることが確認された。また、特徴的な同位体比を示す工場があることが分かり、地域や工場ごとに判別できる可能性が見出された。更に分析装置として GC/IRMS を用いてバルク分析よりも高精度な分離分析を行うことで産地判別の精度向上をさせることができた。

トウモロコシにターゲットを絞り、より精度の高い判別法を検討するため、脱脂等の前処理を行ったが、精度を向上させることは出来ず、新たな手法の検討が課題として残された。

5. 平成 25 年度の研究内容

平成 23 年度及び平成 24 年度の成果を踏まえ、本年度は次の 3 つの研究を行った。

【研究 A】 エタノールの原料・原産地判別

昨年度実施したエタノールの原料・原産地判別のデータ数を増やすため、本年度は 15 検体を国内外から収集し、炭素、酸素及び水素の安定同位体比を測定した。

【研究 B】 飲料酒の安定同位体比及び原料との関係

飲料酒の安定同位体比を測定し、飲料酒の原料の違いや産地の違いを調査する。どのよ

うな違いがどれほど安定同位体比に影響するのかを知る。

【研究C】 トウモロコシの産地判別精度向上に関する研究

トウモロコシを対象とし、部位ごとによる同位体比の変動について研究することで、分析値の精度の向上を図る。

6. 研究成果の概要

平成25年度の研究成果の概要は以下の通りである。

【研究A】 エタノールの原料・原産地判別

国内外で製造されたエタノールの安定同位体比を測定したことで、エタノールの原料・原産地判別に関する新たな知見が得られた。

原料判別については、サトウキビ・糖蜜・トウモロコシ・タピオカ・竹・廃木材等を原料としたエタノールについて分析を行った。竹アルコールと廃木材アルコールはC3植物の米や小麦に近い炭素同位体比を示した。廃木材アルコールとタピオカアルコールは、炭素及び酸素の同位体比が類似しているため判別には水素同位体比が不可欠である。C3植物アルコールはC4植物よりも原料間で炭素同位体比に差があるため、C3植物アルコールの原料の判別は可能である。C4植物のサトウキビ、糖蜜およびトウモロコシの各アルコールについても、炭素同位体比によって判別できる可能性が示された。

産地判別については、水素及び酸素の同位体比によって産地判別ができる可能性が示されたが、サンプルの確保並びにガスクロマトグラフを用いて分析精度を向上させる必要がある。

【研究B】 飲料酒の安定同位体比による原料・原産地判別

近年、飲料酒についても偽造や原産地の不正表示問題が報告されており、今後さらに分析ニーズが増えるものと予想される。研究Aでエタノールの原料・原産地判別の可能性が見出されたことから、市販の飲料酒について産地及び原料の識別の可能性に関する研究を行った。

日本酒・ウィスキー・リキュール類については、遠隔地や隣接地域に明確な違いが見られるなど、地域的な特徴が水の同位体比に反映されていることから産地の判別は可能と考える。

日本酒・麦焼酎・ウィスキー・リキュール類などのアルコール原料については、炭素同位体比によって判別できる可能性が示されたが、麦焼酎以外の焼酎については産地および原料の特定は概して難しい。

飲料酒の産地および原料の特定については地域毎・原料毎に10検体以上のサンプル分析が必要であり、且つ、水の同位体比による判別が重要になることから、分離分析（ガスクロ法）を適用することで分析精度をより向上させるなどの課題が残された。

【研究C】 トウモロコシの産地判別精度向上に関する研究

トウモロコシを対象に可食部の部位ごとの同位体比の変動について研究した。

トウモロコシの可食部として、実全体、皮、胚及び皮と胚を除いた実部分の4種類について分析を行った結果、実全体と皮のサンプルについてはサンプル間でのばらつきは殆ど見られず、産地判別のサンプルにすることの有効性が確認された。一方、胚の変動は最大で1‰ものばらつきが見られ、産地判別のためのサンプルには相応しくない。

【安定同位体比分析法とは（IRMS 法）】

安定同位体は半永久的に崩壊しない元素であり、地球上の存在比（%）はほぼ一定である。しかし、気候／降水量／緯度等によって僅かではあるが存在比が異なっており、地域による違いは小数点以下4桁目が僅かに変動する程度である。この僅かな違いを識別して原産地や原料を判別する方法が安定同位体比分析法である。

例えば、植物原料による同位体比の違いは、光合成回路の違いによって現れる。植物は二酸化炭素を吸収し、ブドウ糖や酸素などを生成する（光合成）。この光合成回路の炭酸固定システム（反応経路）は植物の種類によって異なり、炭素の安定同位体比は僅かに変動する。この僅かに変動する炭素の安定同位体比から、原材料を判別することができる。

【安定同位体比の表記方法】

安定同位体比の値の表記方法は「 δ （デルタ）」が使われる。 δ は偏差比を表しており、特定の基準となる標準物質の安定同位体比に対する千分率（パーミル ‰）として表記する。

例えば、一般的に炭素同位体比では次のように表記する。

$$\begin{aligned}\delta^{13}\text{C} &= \frac{\text{サンプルの炭素同位体比} - \text{標準の炭素同位体比}}{\text{標準の炭素同位体比}} \times 1000 \\ &= \left(\frac{\text{サンプルの炭素同位体比}}{\text{標準の炭素同位体比}} - 1 \right) \times 1000\end{aligned}$$

サンプルの炭素同位体比： サンプルの炭素 $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ 比

標準の炭素同位体比： 標準物質の炭素 $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ 比

- (1) $\delta^{13}\text{C}$ ： 炭素安定同位体比（ ^{13}C と ^{12}C の存在比）
- (2) $\delta^{15}\text{N}$ ： 窒素安定同位体比（ ^{15}N と ^{14}N の存在比）
- (3) δD ： 水素安定同位体比（ ^2H と ^1H の存在比） ^2H は以後Dと記載する。
- (4) $\delta^{18}\text{O}$ ： 酸素安定同位体比（ ^{18}O と ^{16}O の存在比）

7. 研究結果

本年度の研究結果は以下の通りである。

7-1 【研究A】エタノールの安定同位体比による原料・原産地判別

エタノールの安定同位体比による原料・原産地の判別では、炭素同位体比は原料を反映し、酸素及び水素同位体比は原産地の環境を反映すると言われている。

これまでの研究でエタノール原料・原産地判別では、C3植物、C4植物及び合成エタノールの判別が可能であること明らかとなった。また、同じ地域、同じ原料であったとしても同位体比に違いが現れる可能性があるため、よりきめ細やかな情報収集を行うことで工場単位での判別ができる可能性も見出された。更に、分析値の精度向上には不純物を排除した分離分析が不可欠であり、ガスクロマトグラフ分析を適用することでバルク分析よりも炭素同位体比の分析精度を向上させることができるものと考えられる。

そこで今年度の研究目的は、対象のサンプルを増やし、これまでの課題となっていた事項を明らかにするものである。

7-1-1 測定サンプル

東南アジア産 5 検体（糖蜜エタノール）、ブラジル産 4 検体（サトウキビエタノール）、アメリカ産 2 検体（トウモロコシエタノール）及び国内産として 4 検体（米エタノール・竹エタノール・廃木材エタノール）の合計 15 検体を分析に供した。表 1 に分析対象のサンプルを示す。

7-1-2 分析方法

分析対象の元素によって分析装置を使い分け、以下の通り安定同位体比⁴を測定した。

測定元素	分析方法		測定項目
炭素	GC-IRMS 法	ガスクロマトグラフィ-同位体比質量分析計	$\delta^{13}\text{C}$
水素/酸素	TC/EA-IRMS 法	熱分解元素分析計-同位体比質量分析計	δD , $\delta^{18}\text{O}$

7-1-3 測定結果及び考察

炭素、酸素及び水素同位体比を表 2 及び表 3 にプロットした。分析結果から明らかとなった事項は以下の通りである。

- (1) 炭素、酸素及び水素の各同位体比について（全体のプロット）
 - ① 炭素同位体比は、C4植物はC3植物を初めとしたその他の原料と明確に識別されている。
 - ② 竹エタノールや廃木材エタノールは、C3植物に近い値を示す。（米や小麦に類似）
 - ③ 合成エタノールは、酸素同位体比または水素同位体比によって明確に判別できる。
 - ④ 炭素及び酸素同位体比で近い値を示したタピオカエタノールと廃木材エタノールは、水素同位体比で明確に判別できる。
 - ⑤ TC/EA-IRMS による水素同位体比及び酸素同位体比は、炭素同位体比に比べて幅広い分布となったが、TC/EA-IRMS 法が分離分析でないため、サンプルに含まれている水およびエタノール中の不純物が影響したことが原因であると考えられる。分析値には水および不純物による情報が含まれることになるため、分析値のばらつきも大きくなる。したがって、酸素同位体比及び水素同位体比の分析精度を上げるには、ガスクロマトグラフ法によってエタノール分だけを分析ターゲットにできる分離分析の適用が有効である。

⁴ 分析方法は巻末資料参照

(2) C4 植物の原料判別について

- ① C4 植物のサトウキビ（糖蜜を含む）とトウモロコシは、同じ CO₂ 回路を持つことから、それらを原料としたエタノールの炭素同位体比には大きな違いがなく、原料の判別が難しい。しかし、トウモロコシはサトウキビ（糖蜜を含む）よりもわずかに炭素同位体比が大きいことが明らかとなったことから、分析精度を上げることで判別できる可能性が示された。
- ② サトウキビから糖蜜が製造される際に、糖蜜は加熱濃縮され、ショ糖分が抜き取られる工程がある。このことから、糖蜜エタノールとサトウキビエタノールの同位体比に差異が出る可能性がある。したがって、分析用サンプルが十分に入手できればサトウキビと糖蜜を原料としたエタノールの識別はできるものと考えられる。

(3) C3 植物の原料判別について

C3 植物（米や小麦等）のエタノールはサンプルの入手が困難であったため、判別の可能性を判断するために十分なサンプル数が得られなかった。しかし、個々の原料の炭素同位体比を見る限り、C3 植物は C4 植物よりも広く分布していることから、サンプル数を確保することで原料の判別は可能になると考えられる。

(4) 原産地判別の可能性について

測定したエタノール原料の酸素同位体比および水素同位体比は、サンプル中の水分子を含んだ値である。それは純粋なエタノールの分析によって得られる酸素同位体比あるいは水素同位体比とは異なるものであり、水分子の影響を受けている。しかし、原産地の値を反映していることには変わりはない。

- ① C4 植物では、アメリカやカナダのトウモロコシエタノールと東南アジアの糖蜜エタノールとの間で原産地の判別ができる可能性がある。
- ② C3 植物では、国内の米エタノール、中国の小麦エタノール及びタイのタピオカエタノールの間で原産地の判別ができる可能性がある。

7-1-4 小括

エタノールの分析による原料の判別については、測定した殆どのエタノールの原料の判別ができる可能性が示された。

- (1) C4 植物のサトウキビエタノールとトウモロコシエタノールについては原料の判別が可能となった。
- (2) サトウキビエタノールと糖蜜エタノールでは一部プロットが重なる部分はあるものの、判別できる可能性が示された。
- (3) その他のエタノールについては、分析サンプルが十分に入手出来なかったため、判別の可否は明らかになっていない。より多くのサンプルを分析する必要がある。
- (4) 希少な原料である竹や廃木材を原料としたエタノールは、C3 植物の米や小麦に近い炭素同位体比を示している。原料の判別には水素同位体比の分析精度の向上が不可欠である。
- (5) エタノールの水素同位体比および酸素同位体比によって、一部の産地については判別できる可能性が示された。しかし、同じ産地であっても同位体比の変動が大きいものもあり、水素同位体比および酸素同位体比についても炭素同位体比と同様にクロマトグラフィーによる分離分析法を適用して精度を上げる必要がある。

表 1 エタノールサンプル一覧

サンプル 取得年	通し 番号	産地	原料名 ⁵	水分量 wt%	総不純物量 g/L	分析方法			
						炭素		酸素・水素 TC/EA	
						EA	GC		
2011 年度	1	タイ	タピオカ	4.75	0.16	●		●	
	2		糖蜜	6.08	0.02	●		●	
	3	ブラジル (サンパウロ)	サトウキビ	5.78	0.34	●		●	
	4			0.52	1.12	●		●	
	5			5.28	0.04	●		●	
	6			6.22	0.03	●		●	
	7			5.81	0.01 以下	●		●	
	8	メキシコ		6.42	0.08	●		●	
	9	インドネシア (スマトラ島ランブーン)	糖蜜	5.54	0.02	●		●	
	10	カナダ (オンタリオ州)	トウモロコシ	5.83	0.01 以下	●		●	
	11	アメリカ (イリノイ州)		6.25	0.01 以下	●		●	
	12	中国 (安徽省)	小麦スラリー	0.31	1.74	●		●	
	13	— (参考品)	エチレン (合成)	0.03	0.01 以下	●	●	●	
2012 年度	14	タイ	糖蜜	7.06	0.03		●	●	
	15			6.34	0.08		●	●	
	16	インドネシア スマトラ島 A		5.41	0.04		●	●	
	17			5.35	0.03		●	●	
	18	インドネシア スマトラ島 B		5.11	0.12		●	●	
	19			4.99	0.13		●	●	
	20			5.50	0.56		●	●	
	21	インドネシア ジャワ島		5.87	0.01		●	●	
	22			5.91	0.01		●	●	
	23			5.91	0.01		●	●	
	24			5.49	0.84		●	●	
	25	ブラジル (サンパウロ)		サトウキビ	5.68	0.03		●	●
	26				6.24	1.44		●	●
	27				6.43	0.47		●	●
	28				0.35	6.38		●	●
	29				6.34	0.14		●	●
30	ブラジル (サントス)		7.21		0.46		●	●	
31	6.48		0.45			●	●		
32	ブラジル (サンパウロ)	5.95	0.45		●	●			
33	ブラジル (パラナ)	6.88	0.52		●	●			
2013 年度	34	タイ	糖蜜	6.83	0.12		●	●	
	35			6.82	0.05		●	●	
	36			5.96	0.10		●	●	
	37			5.47	4.01		●	●	
	38			7.76	1.08		●	●	
	39	日本	竹	0.28	1.53		●	●	
	40	ブラジル	サトウキビ	0.91	0.91		●	●	
	41			0.41	1.20		●	●	
	42			0.8	1.87		●	●	
	43			0.48	0.95		●	●	
	44	アメリカ	トウモロコシ	2.28	18.02		●	●	
	45			0.49	2.94		●	●	
46	日本 (北海道)	米	2.36	32.19		●	●		
47	日本 (新潟)		0.58	3.89		●	●		
48	日本 (大阪)		廃木材	1.17	19.86		●	●	

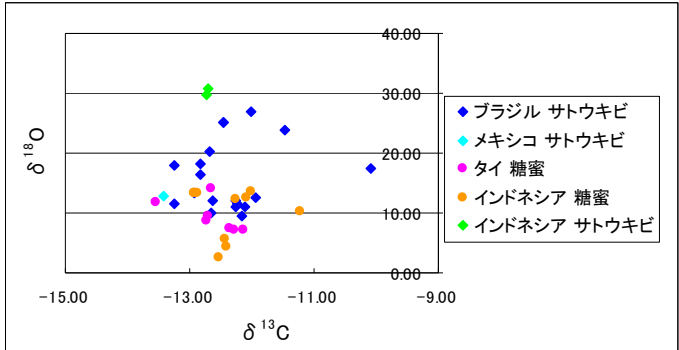
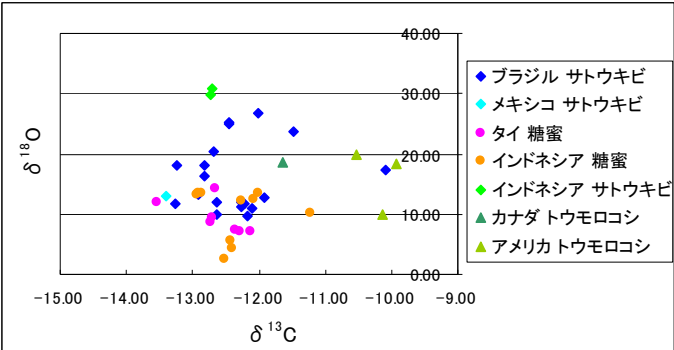
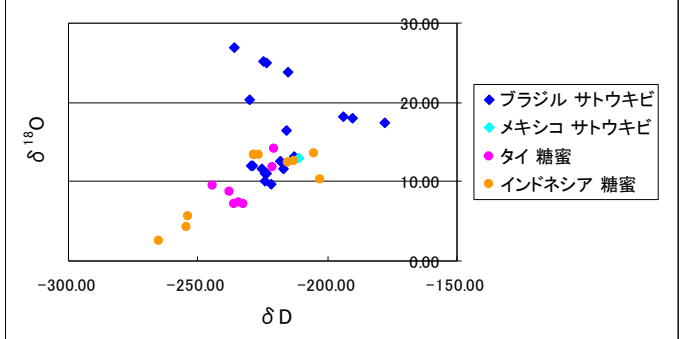
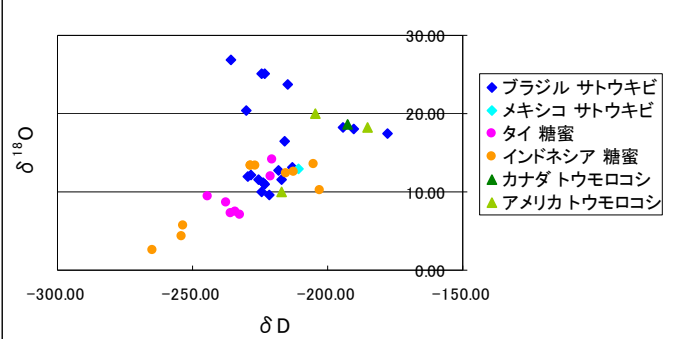
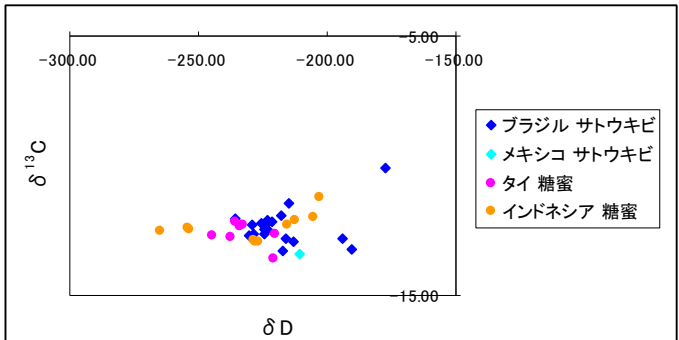
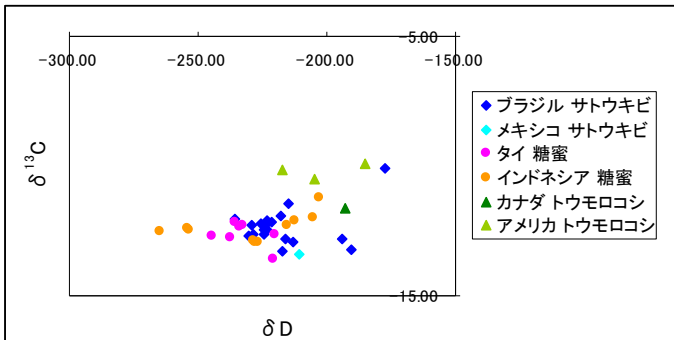
EA : EA-IRMS GC : GC/IRMS TC/EA : TC/EA-IRMS

⁵ 日本へ輸入されるエタノールはサトウキビ由来のブラジル産が 8 割を占めている (平成 22 年データ)。また、ブラジルではサトウキビの絞り汁 (ケーンジュース) を使用してエタノールを生産することが多いが、インドネシアやタイ等では砂糖を製造した後の廃糖蜜 (モラセス) を利用してエタノールを生産することが多い。

表2 エタノールの原料判別

軸	プロット
炭素 × 酸素 同位体比プロット	
水素 × 酸素 同位体比プロット	
水素 × 炭素 同位体比プロット	
所見	<p>C4 植物エタノールの炭素同位体比は、その他原料エタノールと明確に判別することができる。</p> <p>竹エタノールや廃木材エタノールは、米や小麦に類似した C3 植物に近い値である。</p> <p>合成エタノールは酸素同位体比又は水素同位体比を用いることで明確に判別できる。</p> <p>炭素同位体比および酸素同位体比で近い値を示したタピオカエタノールと廃木材エタノールは、水素同位体比に明確な違いが現れた。その他の原料についても水素同位体比に大きな分布が確認された。</p>

表3 C4植物アルコールの同位体比プロット

C4植物（サトウキビ及び糖蜜）	C4植物（サトウキビ、糖蜜及びトウモロコシ）	所見
		<p>【炭素×酸素】同位体比プロット</p> <p>サトウキビエタノールについては、インドネシア産はプロット点が集中しているが、酸素同位体比はばらつきが大きく座標全体にプロットされている。一方、糖蜜エタノールは、酸素同位体比が高いものと低いものとに分かれた。トウモロコシエタノールは、サトウキビエタノール及び糖蜜エタノールよりも炭素同位体比が大きく、判別できる可能性が示された。</p>
		<p>【水素×酸素】同位体比プロット</p> <p>糖蜜エタノールには2種類の分布が確認された。アメリカやカナダよりもタイやインドネシアの水素同位体比が低く、産地による違いが確認された。</p> <p>サトウキビエタノールよりも糖蜜エタノールは、酸素および水素の同位体比が低いことから、一部重なりは見られるが判別できる可能性が示された。</p>
		<p>【水素×炭素】同位体比プロット</p> <p>水素及び炭素の同位体比プロットは、わずかに重なりはあるものの、同じC4植物のサトウキビエタノール（糖蜜を含む）とトウモロコシエタノールとは判別できる可能性が示された。</p>

7-2 【研究B】飲料酒の安定同位体比による原料・原産地判別

市販の飲料酒の分析を行い、原料及び産地判別の可能性について検討した。

飲料酒は農産物と同様に、炭素同位体比は原料由来の値を反映し、酸素および水素の同位体比は原産地の値を反映する。

7-2-1 測定サンプル

市販の飲料酒 105 検体について測定した。(表 4)

分析サンプルは、日本酒(純米酒) 14 検体、純米酒以外の日本酒 22 検体、麦焼酎 17 検体、麦以外の焼酎 37 検体及びウィスキー・リキュール類 15 検体の計 105 検体である。

サンプルの識別はラベル表記の情報によって行った。

7-2-2 測定方法

元素毎の同位体比の測定は下記による。

- (1) 炭素同位体比 ($\delta^{13}\text{C}$): GC-IRMS 法
- (2) 酸素同位体比 ($\delta^{18}\text{O}$): TC/EA-IRMA 法
- (3) 水素同位体比 (δD): TC/EA-IRMA 法

7-2-3 測定結果及び考察

測定結果を表 5 に示す。

分析結果から明らかとなった事項は以下の通りである。

(1) 炭素×酸素プロット

- ① 日本酒は、石川県、北海道及び大分県の判別が可能である。福井県と石川県とは近接したプロットが得られ、隣接した地域性が表れている。また、純米酒以外の日本酒では、石川県については2つの分布となった。
- ② 焼酎は、九州地方(大分県/宮崎県/鹿児島県)の中でも宮崎県の酸素同位体比が比較的 low、産地判別の可能性が見出された。北海道についても同様に産地判別の可能性がある。
- ③ ウィスキー及びリキュール類の炭素同位体比については、原料の違いによる分布が見られるが、酸素同位体比は、地域性があり、特に北海道はプロット点が集中しており、産地判別できる可能性が示された。

(2) 水素×酸素プロット

- ① 九州地方(大分県/宮崎県/鹿児島県)の麦焼酎は、北海道に比べて水素同位体比及び酸素同位体比が共に高い傾向がある。水素×酸素プロットに地域性が認められたことから、この同位体比の違いは製法の違いでなく、使われた水の影響によるものと考えられた。
- ② 麦以外の焼酎では、大分県と鹿児島県、大分県と宮崎県の比較によって、大分県が産地判別できる可能性が示された。
- ③ ウィスキー及びリキュール類の水素×酸素同位体比については、原料ではなく水の同位体比が反映している。特に北海道はプロットが集中している。

表 4 飲料酒サンプルリスト

種別	産地	検体数
日本酒 (純米酒) 14 検体	石川県	7
	北海道	4
	大分県	2
	福井県	1
日本酒 (純米酒以外) 22 検体	石川県	2
	北海道	10
	大分県	10
焼酎(麦) 17 検体	北海道	2
	大分県	8
	鹿児島県	5
	宮崎県	2
焼酎 (麦以外) 37 検体	北海道	2
	宮崎県	7
	鹿児島県	20
	大分県	4
	熊本県	1
	福岡県	1
	沖縄	1
東京	1	
ウィスキー・ リキュール類 15 検体	北海道	2
	大分県	8
	フランス	3
	ドイツ	1
	クロアチア	1
合計		105

(3) 水素×炭素プロット

- ① 日本酒については、北海道のプロットが集中している。
- ② 麦焼酎については、宮崎県が広く分布しているが、鹿児島、大分及び北海道は産地の判別が可能である。
- ③ ウイスキー及びリキュールについては原料による分布が特徴的であり、また、水素同位体比を使うことで国内外を判別できる。

7-2-4 小括

飲料酒の安定同位体比による原料・原産地の判別に関する調査で明らかとなった事項は以下の通りである。判別可能となった項目に対しては、より多くのデータ（サンプル分析数）を集約しデータベースを構築することで、産地判別あるいは原料判別に活用できるものと考ええる。ただし、産地特定・原料特定については地域毎・原料毎に10検体以上のサンプル分析が必要であり、且つ、ガスクロ法を用いた分離分析によって分析精度を向上させるなどの課題が残された。

飲料酒の産地・原料の判別可否

※ この表は後述の表7に相当する

飲料酒の種類	産地特定		原料特定	
日本酒（純米酒）	◎	原料の水の特徴が顕著に現れており、産地の判別は可能である。	○	炭素同位体比が広く分布していることから、原料別のデータベースで対応できる可能性がある。
日本酒（純米酒以外）				
焼酎（麦）				
焼酎（麦以外）	×	産地の判別は難しい。改めて原料別にサンプル分析を行い、産地判別の可否を評価する必要がある。	△	炭素同位体比が概して狭くプロットされていることから、原料の判別は難しい。ただし、一部、特殊な原料は判別できる可能性がある。
ウイスキー・リキュール類	◎	炭素・水素・酸素の各同位体比のプロットが鮮明に分かれグループ化していることから、産地の判別は可能である。	○	炭素同位体比が概して広くプロットされていることから、原料の判別は可能である。

◎判別は充分可能，○判別可能，△特定のものに限って判別可能，×判別困難

- (1) 飲料酒の産地判別は、地域の特性が顕著な北海道や石川県等が判別可能である。
- (2) 九州の中でも産地判別が可能な飲料酒のあることが確認された。
- (3) ウイスキー及びリキュールの産地判別は、国内外及び国内（大分・北海道）での判別が可能である。

表5 飲料酒の判別

酒類	炭素×酸素プロット	水素×酸素プロット	水素×炭素プロット	まとめ
日本酒 (純米酒)				<p>石川県、大分県及び北海道はそれぞれ単独のグループに分かれ、更に隣接の石川県と福井県は近接するなど、産地判別の可能性が示された。特に北海道と大分は炭素・水素・酸素の各同位体比プロットが集中し、他の地域との判別が可能である。</p>
日本酒 (純米酒以外)				<p>地域的な特徴が概して鮮明に表れており、識別が可能である。ただし、石川県は他の地域と重なっており、同位体比が類似している水を使用している可能性があり、産地としての判別は難しい。</p>
焼酎(麦)				<p>鹿児島・大分・北海道は水素同位体比に地域的な特徴が表れており、それぞれの地域の判別が可能である。特に水素および酸素の同位体比で鮮明な違いがあることから、原料の水の違いが現れたものと考えられる。ただし、宮崎のプロットは他の地域と重なっており判別は難しい。飲料酒の地域的な特徴を見出すには水の同位体比が有効と考えられる。</p>
焼酎(麦以外)				<p>麦焼酎以外の焼酎の水素・炭素・酸素の各同位体比は概して狭い範囲にプロットされている。それでも僅かではあるが地域的な特徴も現れている。原料別により多くのサンプル分析を行う必要がある。現段階では地域を判別することは困難と言わざるを得ない。</p>
ウイスキー リキュール				<p>地域的な特徴が概して鮮明に表れており、特に海外と国内ものとの判別が可能である。水素・炭素・酸素の各同位体比を用いれば、国内の地域の判別も可能である。原料による違いが明確に表れており、特にC3植物とC4植物の違いは鮮明であり、判別は可能である。</p>
所見	<p>酸素同位体比は、日本酒、焼酎などで地域的な特徴が明確であり、原料に使われた水の影響によるものと考えられる。炭素同位体比の分布は醸造に使われた原料植物の影響が現れている可能性が推測された。</p>	<p>酸素および水素の各同位体比のプロットは、地域的な特徴が反映されており、炭素同位体比を含めれば地域・原料の判別ができる可能性が示された。</p>	<p>水素同位体比は、海外品および地域的な特徴が現れており、それらを判別できる可能性が示された。</p>	<p>炭素・酸素・水素の各同位体比は、産地・原料及び酒類によってプロット点がグルーピングされるもの、分布が広くあるいは狭くプロットされるものなどいろいろな特徴が現れた。ここでは概して単相関的に捉えたものであるが、それらデータに対して主成分分析あるいは重回帰分析などを適用することで、酒類・原料・地域などの特徴をエタノールサンプルの分析で特徴付けられる可能性が見出された。</p>

7-3 【研究C】トウモロコシの産地判別精度向上に関する研究

昨年度の研究では、トウモロコシの実に対し前処理を実施して測定したが、未処理のサンプルがもっとも判別に適しており、前処理方法による判別精度の向上には繋がらなかった。そこで今年度は、トウモロコシの実を実全体、皮、胚及び皮と胚を取り除いた部分に分け、未処理の状態での測定を行い、部位ごとの値の変動並びに分析精度の向上について検討を行った。

(1) 供試サンプル

測定したサンプルを表6に示す。通し番号 No.1 から 3 までは同一産地、同一品種の同ロットのサンプル品である。No.4 から No.6 に関しては、同一産地で別品種の 3 サンプルについて測定を行った。

表6 トウモロコシサンプル

No.	産地	品種
1	長崎県	スウィートコーン
2	長崎県	スウィートコーン
3	長崎県	スウィートコーン
4	北海道	ピュアホワイト
5	北海道	シュガーラッシュ
6	北海道	夢のコーン

(2) 分析方法

サンプルのトウモロコシから可食部を採取した後、実そのままの全体試料と実からはぎ取った皮と胚及び皮と胚を取った実の部分の 4 種類とした。4 種類のサンプルは分析用サンプルを採取した後、そのまま凍結乾燥して粉末とし、EA/IRMS 法で炭素同位体比を測定した。

(3) 分析結果及び考察

分析結果を図1に示す。

同産地・同品種の同ロット間の測定では、実全体と皮についてはサンプル間のばらつきは殆ど見られない。

しかし、胚の変動は実全体や皮の値と比較して最大で 1 ‰もの差が見られ、この胚部分の値の変動が分析値のばらつきに大きく影響する可能性が示された。また、胚の変動に比べて実全体の変動が少ない理由としては、胚に比べて実の絶対量が多いため、変動幅が少なくなったものと推測する。

皮は、実全体の値よりも分析値が安定しており、実全体で調製した平均サンプルを作成するよりも、皮をサンプルとして分析することが精度の向上につながると思われる。

同産地・別品種間の分析結果はサンプル間でのばらつきが大きいことから、品種の違いが識別できる可能性が示された。

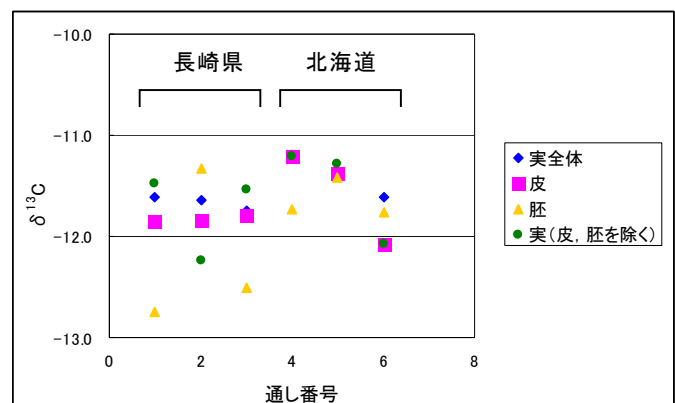


図1 トウモロコシの部位ごとの $\delta^{13}\text{C}$ プロット

8. 総合所見

本年度の研究によって明らかとなった事項は以下の通りである。

8-1 【研究A】エタノールの原料・原産地判別

本年度の研究では、国内外で製造されたエタノールの安定同位体比測定を行い、エタノールの原料判別・産地判別について新たな知見が得られた。エタノールの分析による原料の判別については、測定した殆どのエタノールの原料の判別が可能性であることが示された。

(1) 原料判別

- ① C4植物のサトウキビエタノールとトウモロコシエタノールは原料の判別が可能である。
- ② サトウキビエタノールと糖蜜エタノールでは一部プロット点が重なったが、製造工程で加熱濃縮の工程が加わることで、同位体比の分布にわずかに差が見られたことから原料判別は可能と考える。
- ③ 希少な原料である竹や廃木材を原料としたエタノールは、C3植物の米や小麦に近い炭素同位体比を示しており、原料判別には水素・酸素の同位体比の分析精度の向上が必要である。

(2) 産地判別

エタノールの水素同位体比および酸素同位体比によって、一部の産地については判別できる可能性が示された。しかし、同じ産地であっても同位体比が広く分布するものがあり、水素および酸素の同位体比について、炭素同位体比と同様にクロマトグラフィーによる分離分析法を適用するなどによって分析精度を上げる必要がある。

8-2 【研究B】飲料酒の安定同位体比による原料・原産地判別

エタノールよりもより製造工程や原料が複雑な飲料酒について、産地あるいは原料の識別の可能性に関する調査で明らかとなった事項は下表の通りである。

表7 飲料酒の産地・原料の判別可否

飲料酒の種類	産地特定		原料特定	
日本酒（純米酒）	◎	原料の水の特徴が顕著に現れており、産地の判別は可能である。	○	炭素同位体比が広く分布していることから、原料別のデータベースで対応できる可能性がある。
日本酒（純米酒以外）				
焼酎（麦）				
焼酎（麦以外）	×	産地の判別は難しい。改めて原料別にサンプル分析を行い、産地判別の可否を評価する必要がある。	△	炭素同位体比が概して狭くプロットされていることから、原料の判別は難しい。ただし、一部、特殊な原料は判別できる可能性がある。
ウイスキー・リキュール類	◎	炭素・水素・酸素の各同位体比のプロットが鮮明に分かれグループ化していることから、産地の判別は可能である。	○	炭素同位体比が概して広くプロットされていることから、原料の判別は可能である。

◎判別は十分に可能，○判別可能，△特定のものに限って判別可能，×判別困難

日本酒（純米酒）については産地ごとの分類が可能であり、石川県と福井県のような隣接する地域が近似したグループになるなど地域の特徴が明確に見出された。焼酎やウイスキー類についても地域的な特徴が見出されたが、麦焼酎以外は原料が多様であるため原料判別は容易でない。産地判別には飲料酒中の水が強く反映していることから、水素×酸素同位体比に基づく判別の有効性が示された。

産地・原料が判別できる可能性が示された飲料酒に対しては、より多くのデータ（サンプル分析数）を集約しデータベースを構築することで充分対応できるものとする。ただし、産

地特定・原料特定については地域毎・原料毎に 10 検体以上のサンプル分析が必要であり、且つ、分離分析（ガスクロ法）によって分析精度を向上させるなどの課題が残された。

8-3 【研究 C】 トウモロコシの産地判別精度向上に関する研究

トウモロコシを対象に可食部の部位ごとの同位体比の変動について研究した。

トウモロコシの可食部については、実全体、皮、胚及び皮と胚を除いた実部分の 4 種類について検討を行った結果、実全体と皮についてはサンプル間のばらつきは殆ど見られなかった。一方、胚の変動は実全体や皮に比べて最大で 1 %のばらつきが見られた。胚の変動に比べて実全体の変動が少ない理由としては、胚に比べて実の絶対量が多いため、実全体の変動幅が少なくなったものと推測する。

同産地・別品種間での測定では、品種の違いによる部位ごとの値の変動が大きく、品種の違いが識別できる可能性が示された。

同産地・同品種、同ロット間の測定から、胚及び皮と胚を除いた実の値は変動が大きいことが示されたため、トウモロコシについては皮の測定を行うことが精度の向上につながることを示された。すなわち、植物体等の同位体比を分析するにおいては、同位体比が安定している特定部位を選定して分析することで安定した分析値が得られることから、産地あるいは原料の判別のための分析では部位選定が極めて重要であることが明らかとなった。

9. 引用文献

- ① Keiko Ishida-Fujii,他 Botanical and Geographical Origin Identification of Industrial Ethanol by Stable Isotope Analyses of C, H and O. Biosci. Biotechnol. Biochem, 69(11), 2193-2199, 2005
- ② 鈴木彌生子他, 安定同位体比分析による国産米の産地及び有機栽培判別の可能性 分析化学 Vol58, No.12 pp1053-1058(2009)
- ③ 奈良岡浩, 分子レベル安定同位体比を用いた有機化合物の地球表層における地球化学サイクル 日産科学振興財団研究報告書, 19 (1996)

巻末資料

表 8 安定同位体比の測定条件

表 8 安定同位体比の測定条件

分析装置	測定条件	詳細
ガスクロマトグラフ/ 同位体比質量分析計 (GC/C/IRMS 法) ($\delta^{13}\text{C}$)	試料量	試料 $1\mu\text{l}$ をシクロヘキサン 1ml に混合した溶液を $1\mu\text{l}$ 注入した。
	注入方法	スプリット (スプリット比=1 : 20)
	使用カラム	DB-5 (30m \times 0.25 μm \times 0.25mm)
	昇温条件	35 $^{\circ}\text{C}$ (5分保持) \rightarrow 2 $^{\circ}\text{C}/\text{分}$ \rightarrow 80 $^{\circ}\text{C}$ \rightarrow 20 $^{\circ}\text{C}/\text{分}$ \rightarrow 180 $^{\circ}\text{C}$
	燃焼炉の温度	1030 $^{\circ}\text{C}$
	標準物質	Ethanol from vodka (Indiana University) Ethanol from rum (Indiana University)
酸化還元元素分析計 (EA-IRMS 法) ($\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$)	サンプル量	Reference gas. と同強度になるようにサンプル量を設定した。
	注入方法	錫カプセル (直径 5.0 mm / 高さ 9 mm) に封印し, 固体サンプル用オートサンプラーにて注入した。
	酸化炉の温度	750 $^{\circ}\text{C}$
	還元炉の温度	1000 $^{\circ}\text{C}$
	分離カラムの温度	40 $^{\circ}\text{C}$
	標準物質	USGS34, Potassium Nitrate IAEA-600, Caffrine IAEA-CH-7, Polyethylene IAEA-N-2, Ammonium Sulfate USGS41, L-glutamic acid USGS25, Ammonium Sulfate
熱分解元素分析計 (TC/EA-IRMS 法) (δD , $\delta^{18}\text{O}$)	サンプル量	Reference gas. と同強度になるようにサンプル量を設定した。
	注入方法	銀カプセル (直径 3.3 mm / 高さ 5 mm) に封印し, 固体サンプル用オートサンプラーにて注入した。
	熱分解炉の温度	1400 $^{\circ}\text{C}$
	分離カラムの温度	70 $^{\circ}\text{C}$
	標準物質	IAEA-601, Benzoic Acid IAEA-602, Benzoic Acid USGS34, Potassium Nitrate Coumarin (Indiana University) C-36 (Indiana University)