

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 4 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	3
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、種別の研究＞

＜ 味覚センサーを併用した蒸留酒の原料・産地の判別＞

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る。また、採蜜を行うミツバチの世界的現象にともない価格も増大傾向にある。昨年度に引き続き、安定的に国内需要が伸びているハチミツの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もの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。世界第二位の生産量であるアルゼンチンでは原蜜の買い付けが集中して品薄に、カナダ産やハンガリー産も不作が続いている。2014年以來右肩上がりであったウクライナ産も不安定な情勢下により輸入の目途が立っていない。

その中でも依然として国内需要は増大しているため、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偽和物を混ぜた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。液糖がハチミツより価格が安いことから、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、海外では炭素安定同位体比による検査法が普及しており、いずれも **Official Methods of Analysis of AOAC International(Horwitz, 2006)**に掲載されている。

(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知られる。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、一方で多くの植物は 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。この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。これ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方法が AOAC 法として認知されている。

(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試みられている。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していく。つまり、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ていくことで、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。

以上のことから、ハチミツの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な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する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可能性・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 2015 年に測定した安定同位体比データを元に同じ種類・銘柄の国産蒸留酒を測定し、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 108 種、カナダ産 35 種、ミャンマー産 16 種、メキシコ産 11 種、アルゼンチン産 8 種、ハンガリー産 5 種、ニュージーランド産 2 種、スペ

イン産 2 種、ブラジル産 1 種、イタリア産 1 種、の計 189 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 26 種、レンゲ 21 種、ひまわり 9 種、ローズマリー 2 種、ホワイト 61 種、ELA 30 種、百花蜜 19 種の計 168 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. 国産蒸留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分析を行った。（表 1 及び 2）。

表 1. 蒸留酒サンプルリスト

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
	合計	51

表 2. 原料別内訳

原料	検体数
さつまいも	19
そば	7
麦	17
米	8
合計	51

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。AOAC 法に従いハチミツに含まれるタンパク質を抽出し、EA/IRMS にて測定することで窒素安定同位体比を得た。

5-2. 味覚センサーによる測定

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) で濃醇感 (キレ)、熟成感 (深み)、旨味及び旨味コクを測定し、生産県別及び原料別に比較した。なお、同センサーではアルコール分 20% 以上のサンプルは測定できないため、蒸留水で測定可能範囲まで適宜希釈したものを測定した。

測定結果は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。

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。

今回測定した試料では、 $\delta^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ は -28.9 ~ -21.8 ‰ の範囲に、 $\delta^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ は -1.3 ~ 10.4 ‰ の間にプロットされた。

産地別に比較したところ、中国産において $\delta^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ は全域に広がっており、-27.0 ~ -26.0 ‰ の範囲と -25.0 ~ -24.0 ‰ の両範囲に偏りが見られ、 $\delta^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ は -1.0 ~ 3.0 ‰ の範囲に帯状に分布

しており、特に 1.00~2.00 ‰の範囲に偏って見られた。

同じく、カナダ産では $\delta^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -28.0~-26.0 ‰、 $\delta^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ 2.5~5.0 ‰の範囲、アルゼンチン産では $\delta^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -26.0~-25.5 ‰、 $\delta^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ 3.0~5.0 ‰の範囲に集中してプロットされる傾向にあった。

ミャンマー産はプロット範囲が大きく偏りが見られないこと、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。

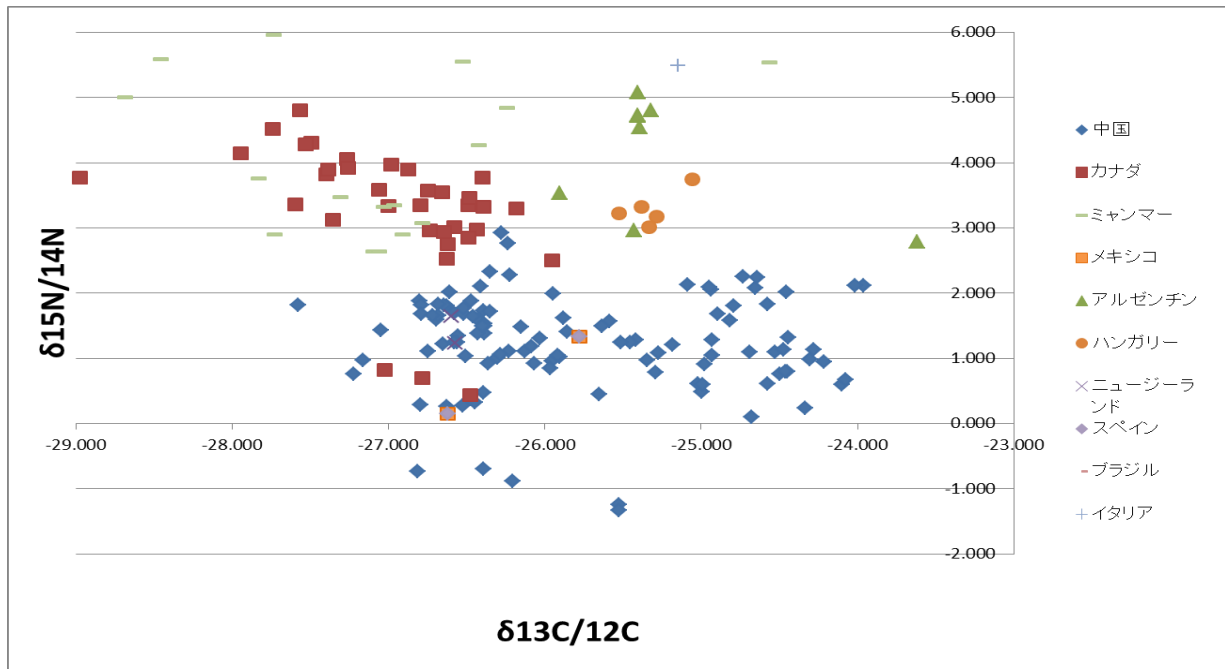


Fig 1. 産地毎の炭素・窒素安定同位体比

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。

今回測定した試料中、原料花別ではアカシアが最も多く、主要な範囲は $\delta^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ は-25.5~-24.0 ‰、 $\delta^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ は 0.5~2.0 ‰であった。次いで多かったレンゲにおいては、主要範囲は $\delta^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ は-27.0~-26.5 ‰、 $\delta^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ は 0.5~2.5 ‰であった。ひまわりについては $\delta^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ は-28.0~-27.0 ‰、 $\delta^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ は 2.5~3.5 ‰と昨年とは異なる傾向を示した。

複数の花蜜が混在しているホワイトや ELA については分布範囲が広く、個別に傾向をみる事ができなかった。

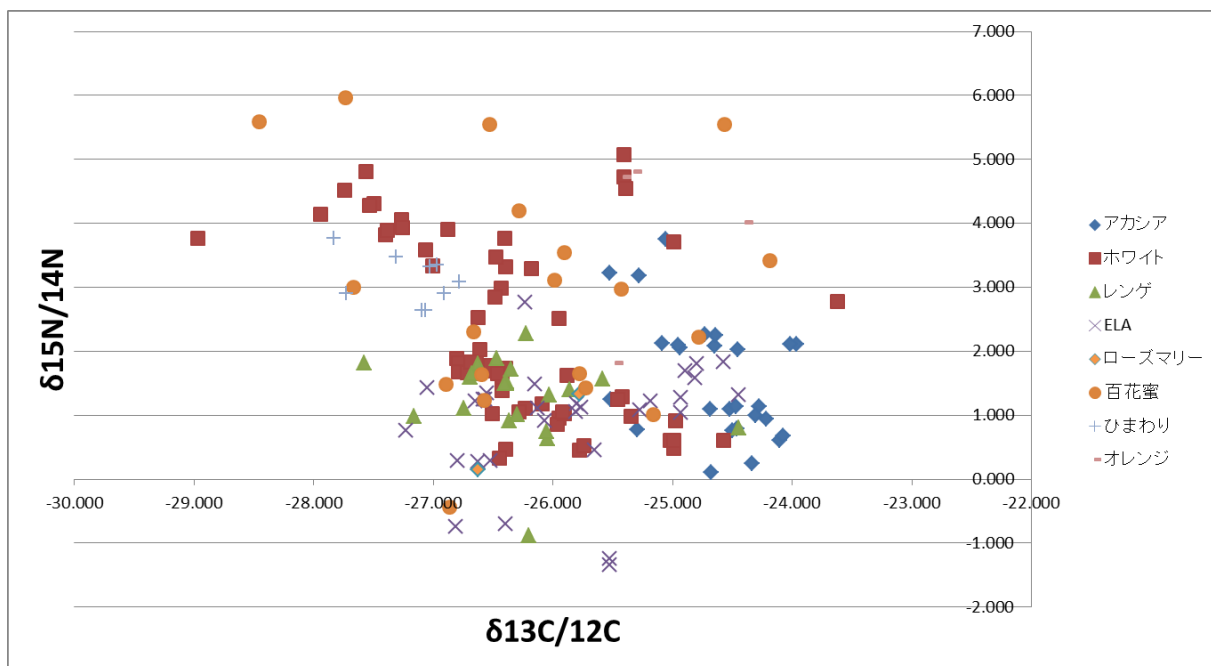


Fig 2. 花の種類毎の炭素・窒素安定同位体比

6-3 国産蒸留酒の味覚センサーによる測定

すべての試料を測定し、濃醇感及び熟成感について生産地別に解析した結果を解析したところ、産地による偏りは見られなかった (Fig.3)。

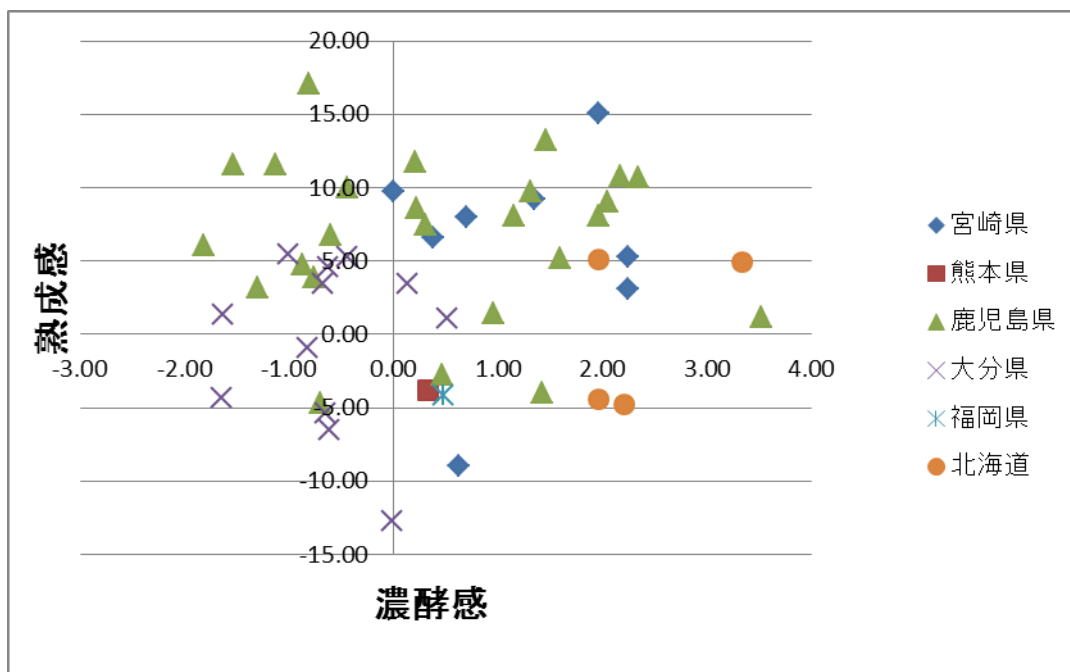


Fig.3 国産蒸留酒の生産地別（濃醇感×熟成感）比較

一方で、生産地と原料（さつまいも、そば、麦、及び米）を組み合わせた平均値で解析した結果、一部地域において特徴的なチャートを得ることができた。(Fig.4-1~4)

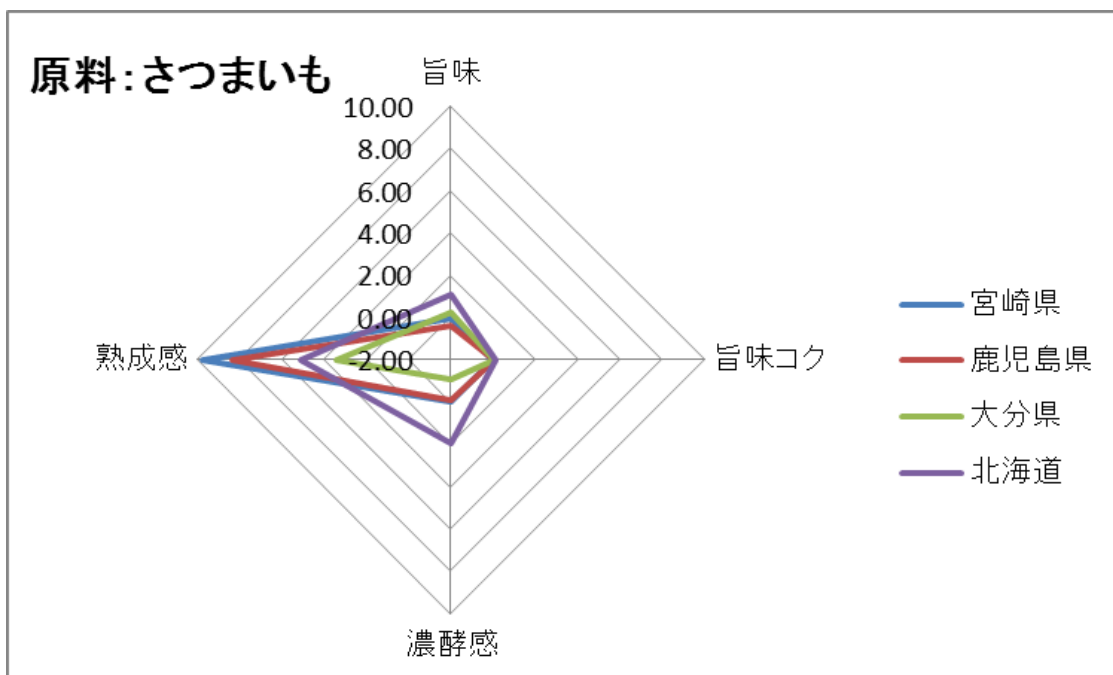


Fig.4-1 生産地-原料 (さつまいも)

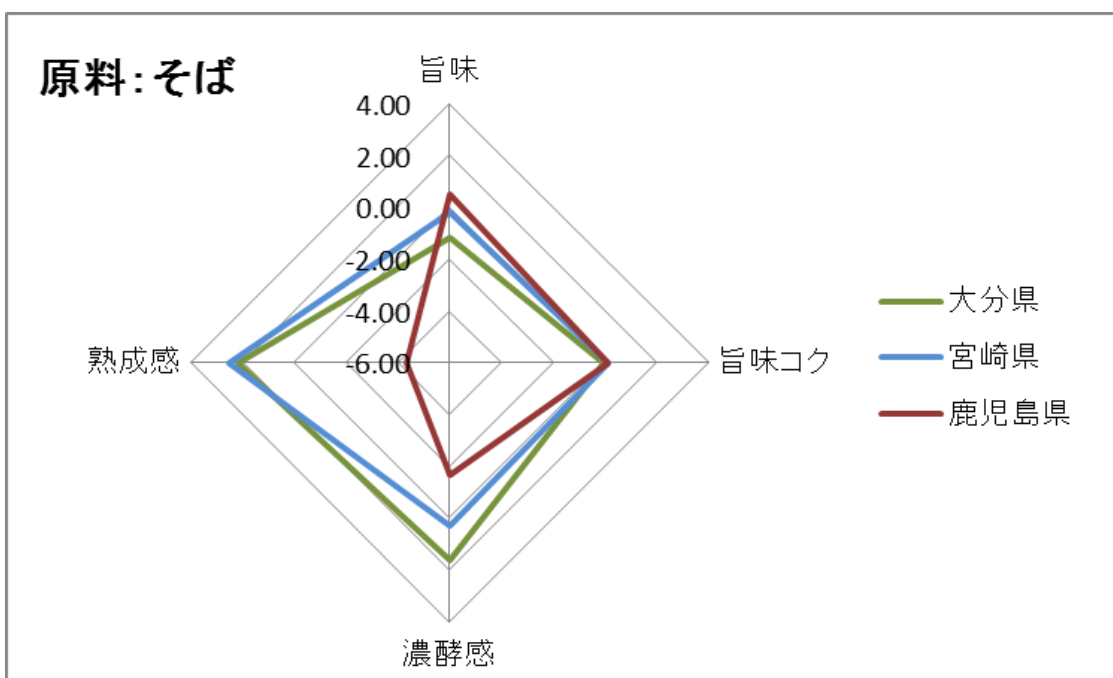


Fig.4-2 生産地-原料 (そば)

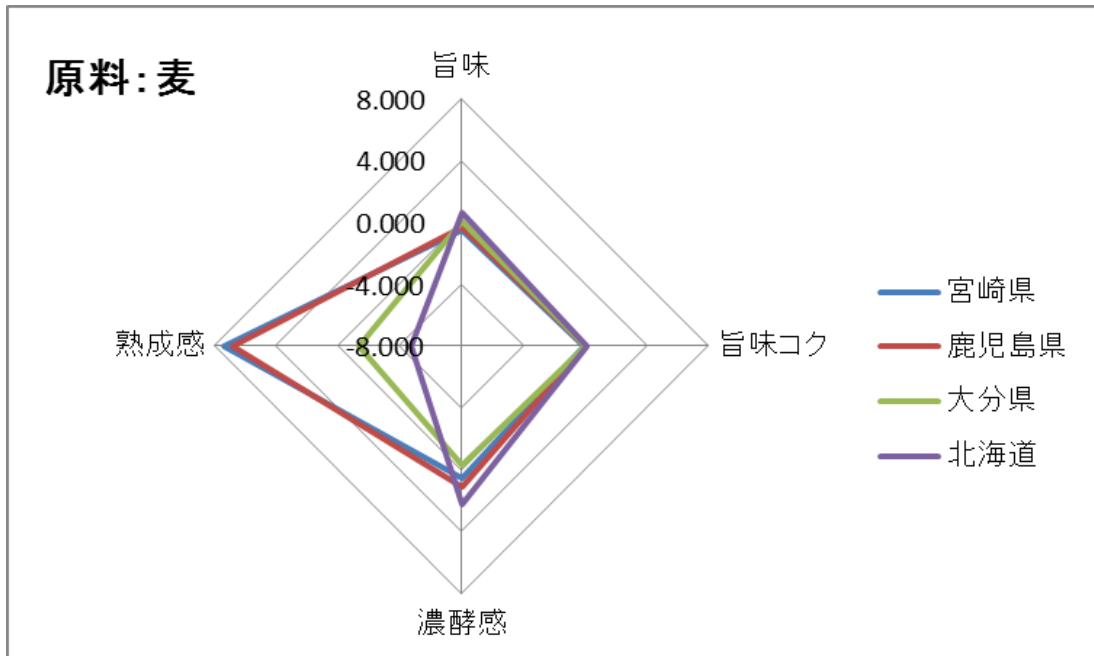


Fig.4-3 生産地-原料 (麦)

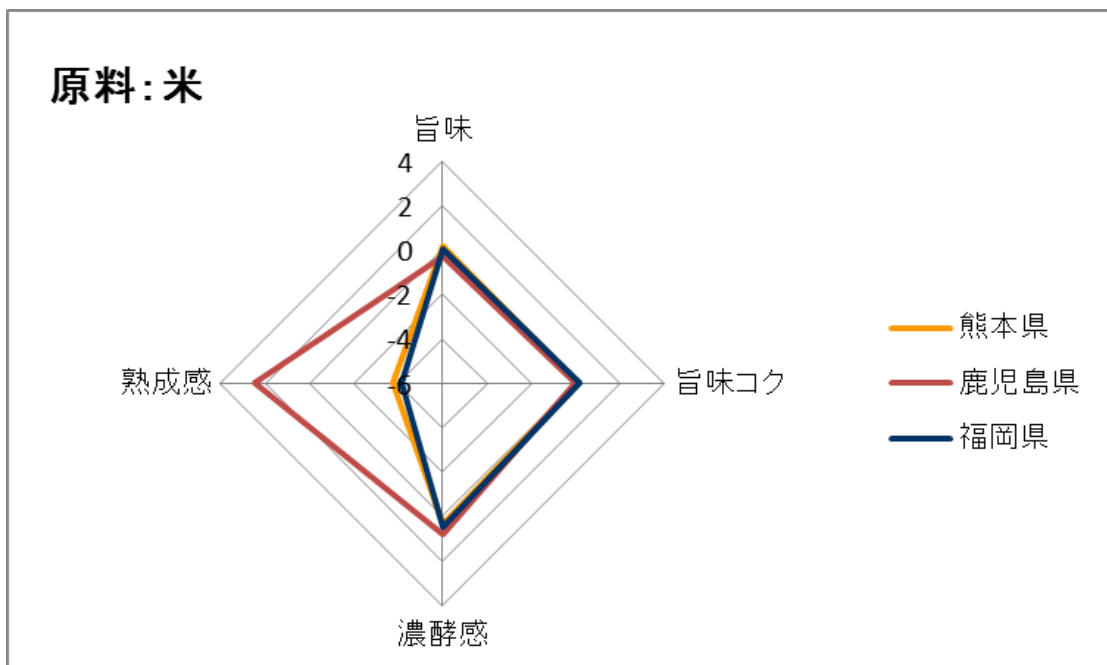


Fig.4-4 生産地-原料 (米)

生産地—原料別にみると、「そば」を除く原料について旨味、旨味コク、濃醇感（キレ）に大きな差はないものの、鹿児島・宮崎で深みを表す熟成感が突出して高く、他の生産地のものとは一線を介していた。これらは生産地の好みに影響していることが予想され、別の地域でも原料別で比較した場合、味覚による地域差が取れる可能性を示唆している。

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、 $\delta^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ は比較的狭い範囲となる傾向が見られた。ここ数年のデータと照らし合わせると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（Fig.5）。アルゼンチン産・カナダ産・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、これらは昨年と一致している。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きれないものの、 $\delta^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ と $\delta^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ の結果を組合せることで生産国の推定が可能であることが示唆された。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可能性が期待できる。

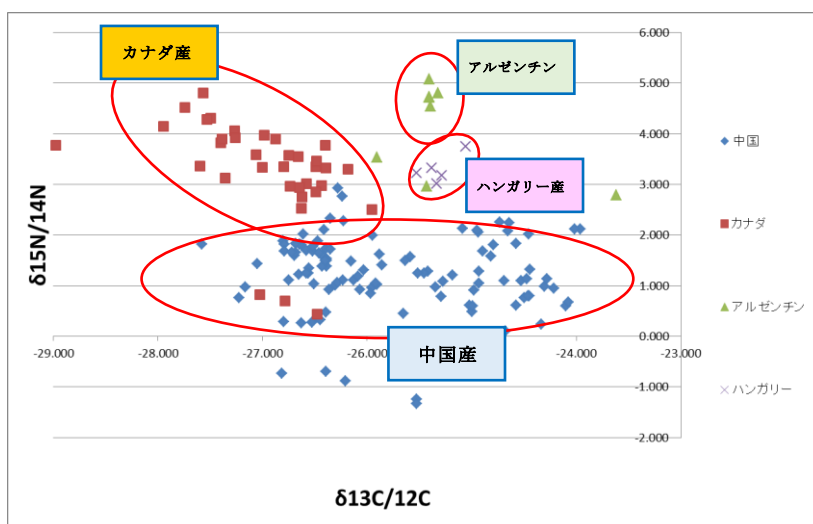


Fig.5 生産量上位国サンプルの安定同位体比

一方、原料花の種類別に見たところ、 $\delta^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ で比較した場合は昨年同様、マメ科であるアカシア・レンゲは値が低く、キク科であるヒマワリは値が高めにプロットされていた。また、アカシアとレンゲを $\delta^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ で比較すると種ごとの偏りがあるように見えた。以上のことから、今後サンプル数を増やしデータを重ねることで、主要な原料花ごとに判別できる可能性が示唆された。引き続き種類別のデータを取得することとしたい。

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方向からの有用性が考えられる。ただし現在のところ、判別については産地・原料花を比較することをベースとしており、単独の測定で推定するにはさらにデータを積み重ねる必要がある。

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。

本研究において味覚センサーによる比較を行ったところ、製品単体での比較は難しく地域性は見いだせなかった。しかしながら、測定値を原料ごとに解析することにより地域によっては突出した特徴が見られた。本データは平均値を取っていることから、古くから醸造の文化が根付いている地域において、製品ごとに微妙に異なるものの味覚の好み・方向性が一致していることで生じる結果であると推測される。

国内で製造される醸造酒・蒸留酒は、原料穀物、その土地由来の地下水、酒種の発酵による複雑な味わいを醸し出し、その種類も豊富であることから判別が難しいとされる。安定同位体比によって原料由来・水由来の違い、また味覚による地方ごとの差を複合的に比較することで酒類判別の可能性を見出すことができた。

味覚による地域差判別は他の発酵物においても応用できる可能性を秘めており、味覚センサーを利用した原産地判別への応用を期待したい。