

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 6 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	3
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。加えて、原料価格の安い産地のものや後述する異性化糖を混合して不当に嵩を増す事例が報告されている。

栄養成分への注目や高付加価値製品の製造に使用されるなど、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花粉の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。本研究では比較標準品を固定して味覚値の差を求め、複数のデータを解析することに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

昨年度に引き続き、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、生産国別の傾向を比較した。加えて、EA/IRMS で測定したハチミツを対象として味覚センサーによる測定を行なった。

味覚センサーの産地判別のための有効性を見極める一環として、清酒について生産県別の測定及び同一産地の複数サンプルについて味覚センサーを用いて測定し、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

ハチミツは生産国別に、中国産 64 種、カナダ産 22 種、国産 14 種、ミャンマー産 14 種、ハンガリー産 7 種、アルゼンチン産 3 種、ウクライナ産 2 種、ベトナム産・グアテマラ産・ブルガリア産各 1 種の計 129 サンプルについて測定を行なった。

4-2. ハチミツの味覚センサー測定

ハチミツの安定同位体比による産地特定を補完するデータとして活用できるかを調べるため、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、旨味に限定して解析を行い、国産ブレンド品と比較した。

4-3. 酒の味覚センサー測定

昨年度の本研究において、酒類について差が出やすい味覚分類としては「熟成感」と「濃醇感」であることが判明したため、引き続きこれら二味について比較を行った。

測定は2つのグループに分けて行い、第1グループは20道府県で製造された20銘柄(表1)、第2グループは新潟県で製造された30銘柄について測定を行なった。なお、各サンプルはすべて当年製造のものであり、基準液はエタノール(特級)を10%に調整したものを使用した。

表1. 第1グループ産地一覧

産地	検体数	産地	検体数
北海道	1	愛知県	1
青森県	1	三重県	1
宮城県	1	岐阜県	1
山形県	1	滋賀県	1
福島県	1	京都府	1
新潟県	1	奈良県	1
富山県	1	広島県	1
石川県	1	徳島県	1
長野県	1	高知県	1
静岡県	1	熊本県	1

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ものの窒素安定同位体比は得られない。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比較することとした。

5-2. 味覚センサーによる測定

はちみつ及び清酒サンプルを、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、清酒についてはアルコール度数がすべてセンサー測定可能範囲であったため、原液のまま測定を行った。

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 に示す。

今年度測定した試料では、 $\delta^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ は $-28.68 \sim -24.43 \text{ ‰}$ の範囲に、 $\delta^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ は $0.15 \sim 5.58 \text{ ‰}$ の間にプロットされた。

生産国別に比較したところ、中国産は $\delta^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ で幅広く、 $-28.00 \sim -24.00 \text{ ‰}$ の範囲に広がっていた。その一方で、 $\delta^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ の値については $1.0 \sim 2.5 \text{ ‰}$ の範囲に分布しており、他国産のものよりも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 $\delta^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ で $-27.56 \sim -26.00 \text{ ‰}$ 、 $\delta^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ で $3.2 \sim 5.9 \text{ ‰}$ の範囲に多く分布し、一部こちらにも偏りが認められた。

EU 産で輸入実績が多いハンガリー産については $\delta^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ でカナダ産の値と近いものの、 $\delta^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ で -25.00 ‰ 付近と差が見られた。

近年輸入が増加しているミャンマー産は $\delta^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ $-28.00 \sim -27.00 \text{ ‰}$ の範囲がボリュームゾーンであるが、例年と異なり -25.00 ‰ 付近での結果も確認された。 $\delta^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ については例年同様 3.0 ‰ 以上と高めに測定される傾向が見られた。

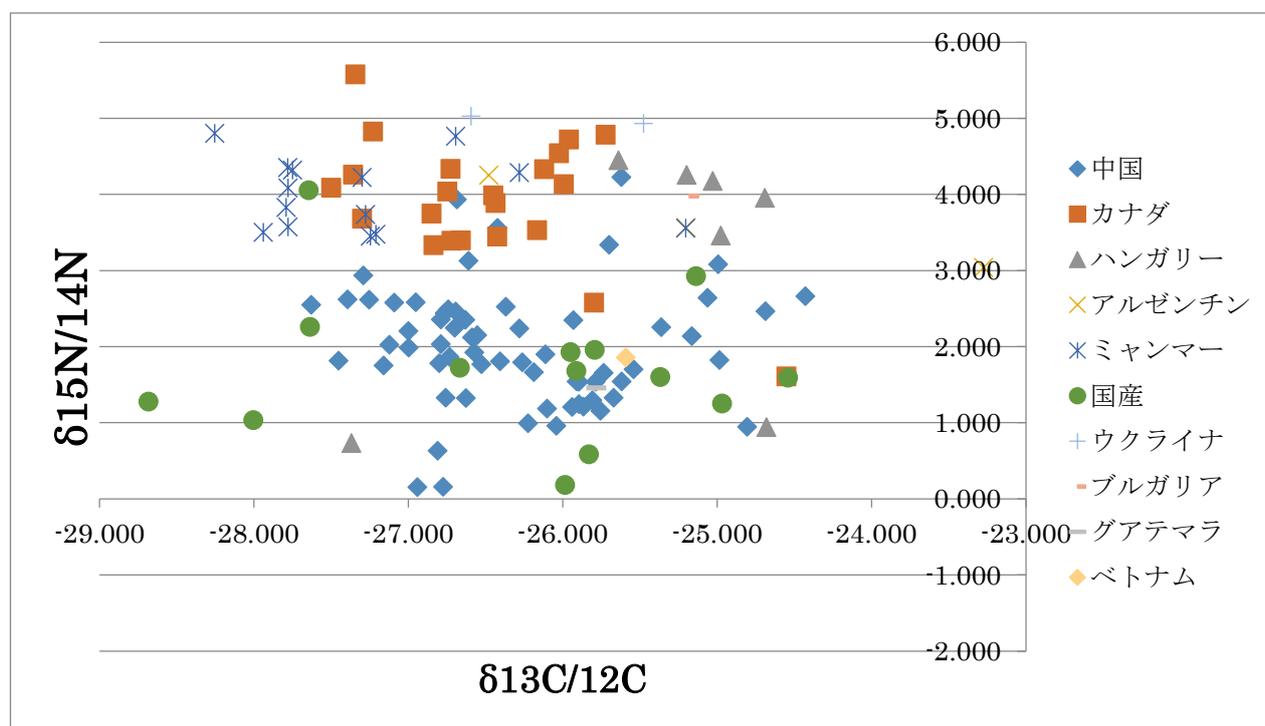


Fig 1. 生産国別の炭素・窒素安定同位体比

6-2 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、昨年同様酸味について差が大きく、特にミャンマー産の検体で酸味・旨味について特徴が見られた。(Fig.2)。

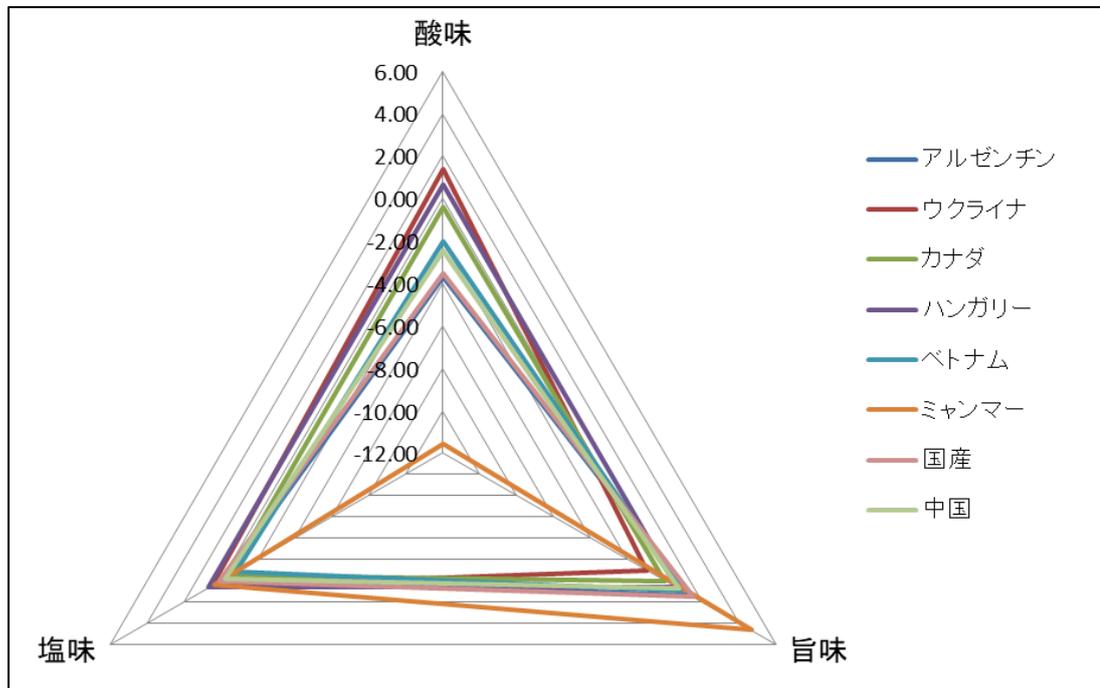


Fig.2 はちみつの生産国別の比較 (酸味×塩味×旨味)

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ミャンマー産についてはサンプル間の差が大きく、一方でカナダ産は一点を除くと酸味、塩味、旨味においては安定した味覚値であり、国産ではすべてのサンプルで安定した味覚値であった。

また、ミャンマー産において旨味で大きく差が出ているサンプルが認められた。(Fig.3-1~4)

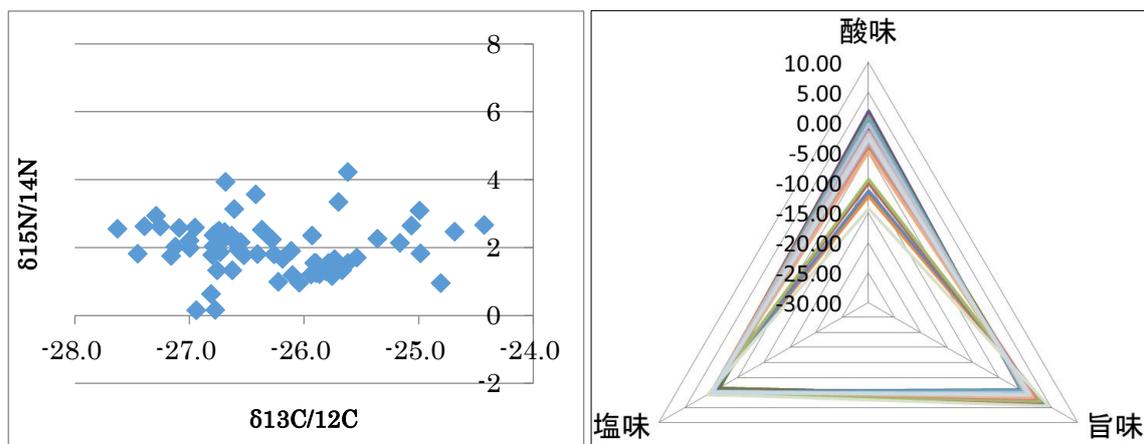


Fig.3-1 同位体比-味覚センサー (中国)

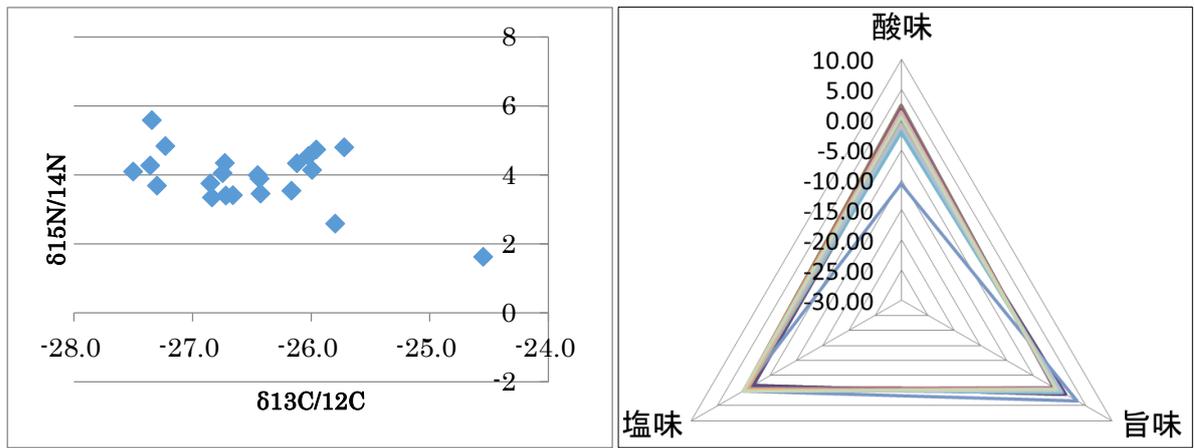


Fig.3-2 同位体比-味覚センサー (カナダ)

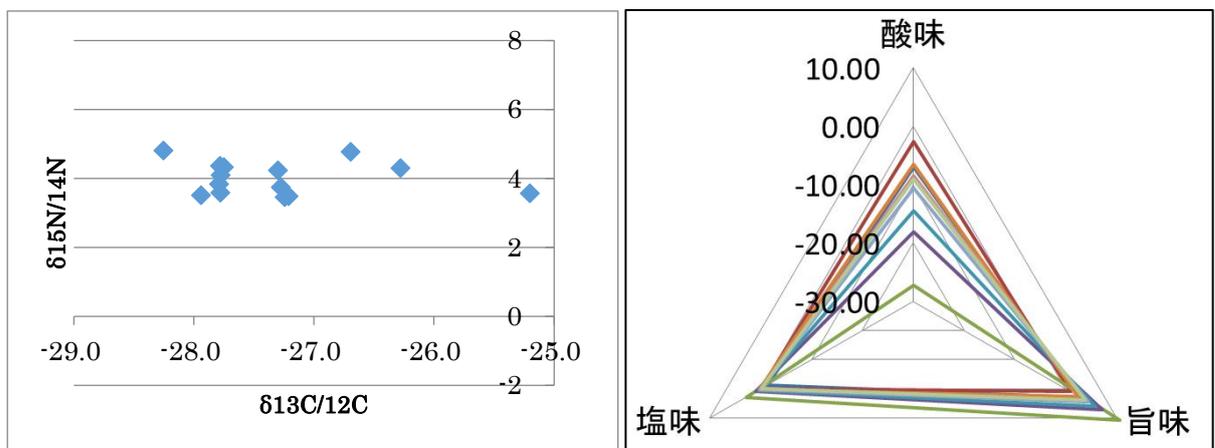


Fig.3-3 同位体比-味覚センサー (ミャンマー)

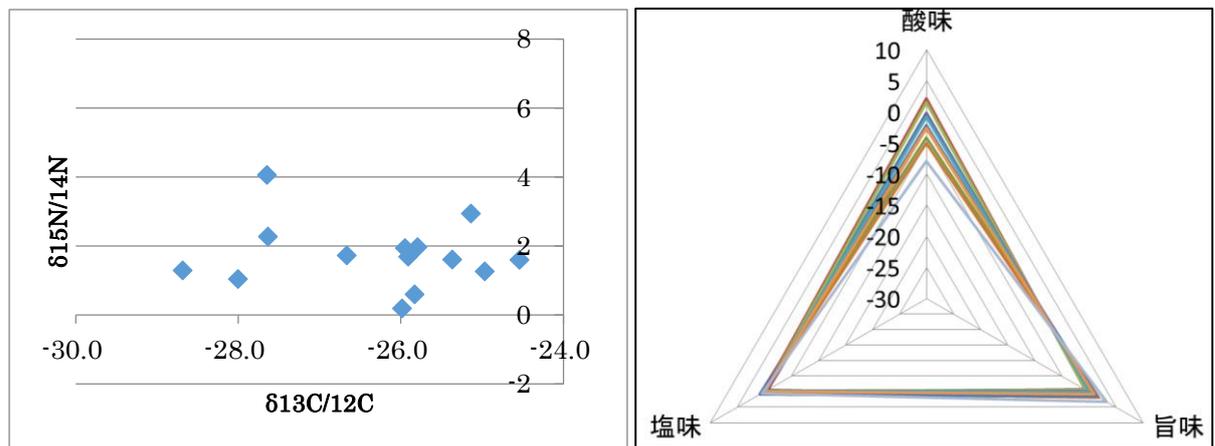


Fig.3-4 同位体比-味覚センサー (国産)

6-3. 清酒の味覚センサーによる測定

味覚センサーを用いて各道府県の清酒サンプルを測定した結果、熟成感・濃醇感のプロット範囲は全体的に広がる傾向が見られた。気候や山側・海側などの地域差、地方差による偏りは認められなかった (Fig.5-1)。

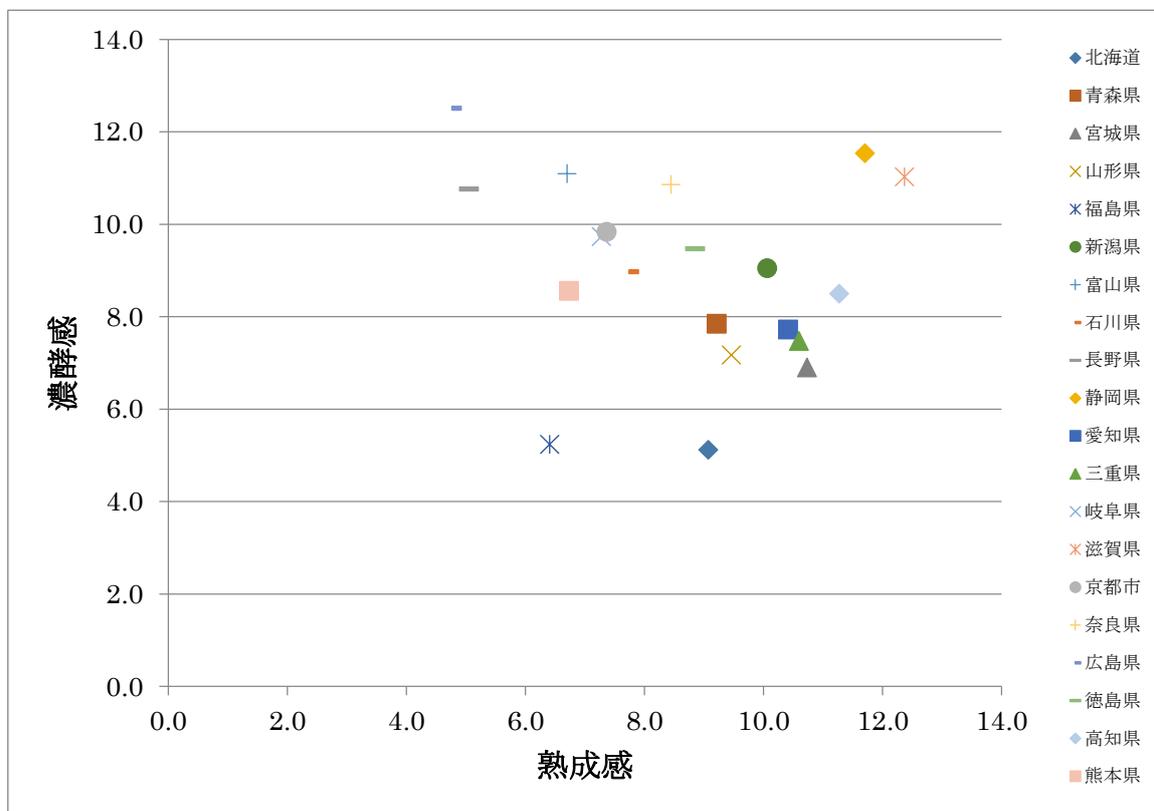


Fig.5-1 清酒における道府県別測定結果

新潟県産 30 銘柄について測定したところ、メインプロットは濃醇感で 6.0~10.0、熟成感で 1.5~11.9 となった (Fig.5-2)。

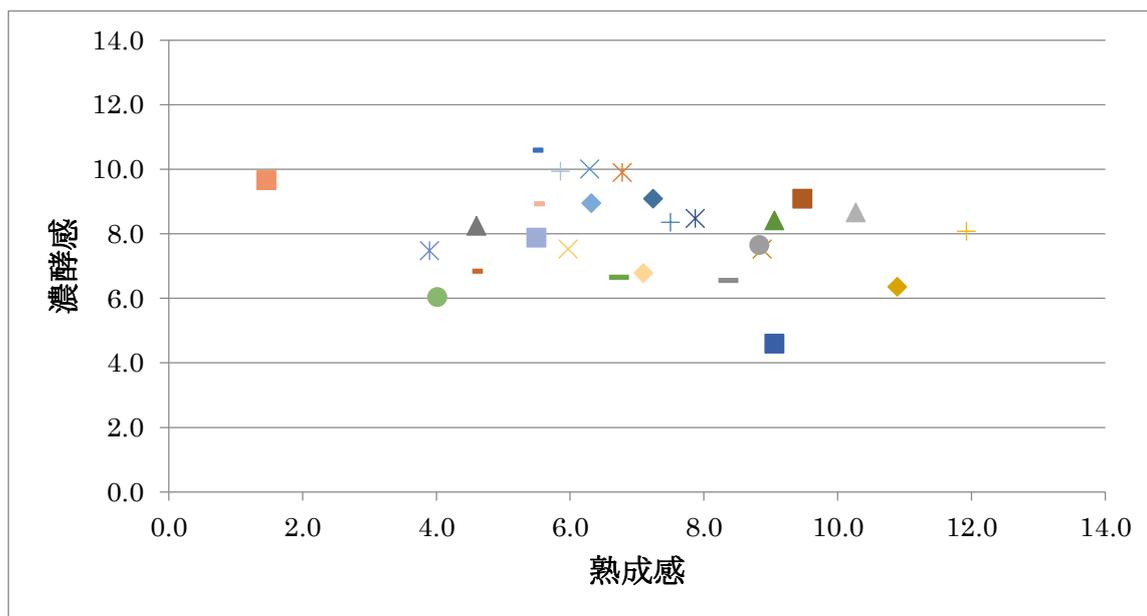


Fig.5-2 新潟県産清酒 30 銘柄の測定結果

7. 総括

7-1. EA/IRMS 法による炭素・窒素安定同位体比

ハチミツの国別安定同位体比を比較したところ、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。過去 2 年間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は $\delta^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ の値に注目すると、他国産と区別されることが示唆された。カナダ産及びハンガリー産についてもバラつきはあるものの、プロット表の特定領域に偏る傾向が見られ、同様に過去 2 年のデータと一致している。一方で、ミャンマー産は昨年よりもばらつきが大きい結果となり、産地判定のためにはデータを積み上げる必要があると考えられる。ただし、ミャンマー産については他国産よりも $\delta^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ が低く、 $\delta^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ が高い傾向があるため、今後より多くのサンプルを解析することに寄り産地判別できる可能性が示唆されている。(Fig.6)

昨年まで解析を行っていた原料花別の判定については、花の種類による差は少ない結果となっており判別は困難であると判断したため実施していない。ハチミツは蜜を収集する際にミツバチの唾液と混合され体内に一旦蓄積されることが知られている。唾液に含まれる酵素によりタンパク測定値に差が出ると仮定した場合、地域性を決定する要因としては花の生育環境よりもミツバチの種類、地域的な遺伝特性にある可能性が考えられる。ハチミツそのものではなく、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ため、引き続きサンプルを集めてデータを取得し、産地判別の一役を担うデータを収集していく。

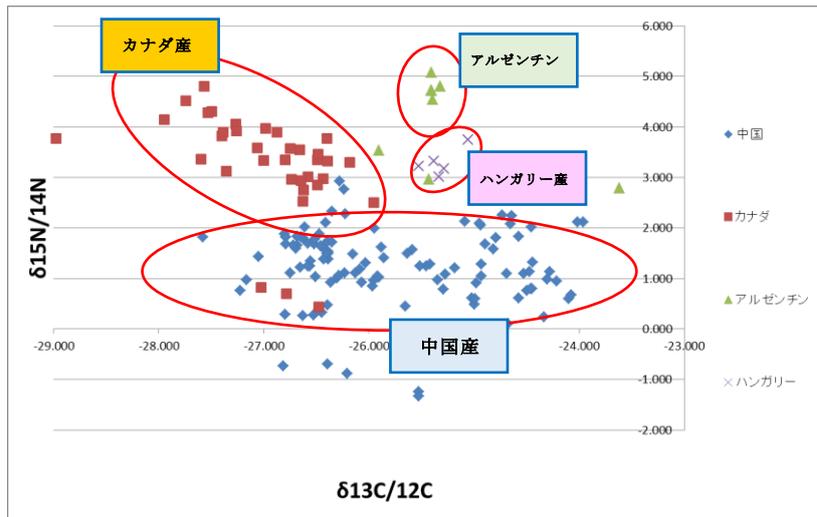


Fig.6-1 測定数量上位国サンプルの安定同位体比（2021年度測定）

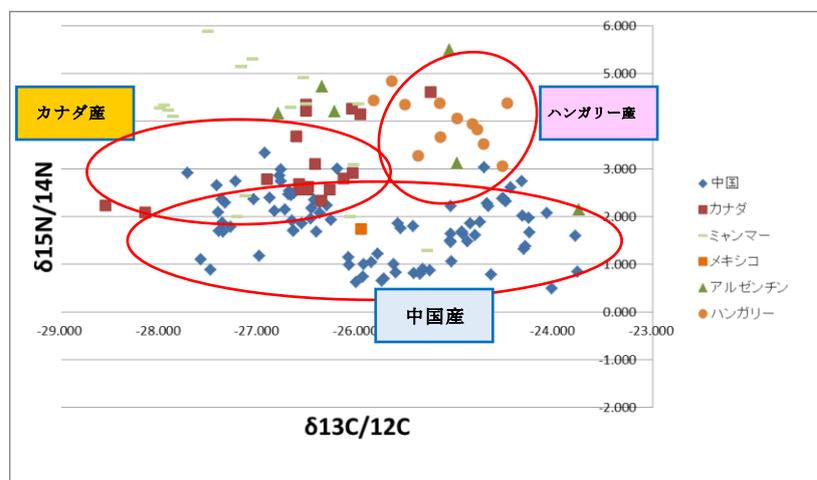


Fig.6-2 測定数量上位国サンプルの安定同位体比（2022年度測定）

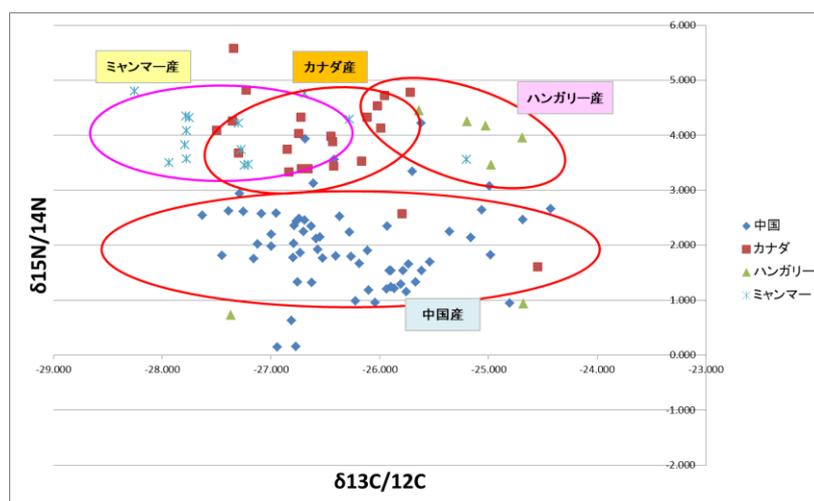


Fig.6-3 測定数量上位国サンプルの安定同位体比（2023年度測定）

一方、味覚センサーを用いた測定結果では地域性について明確な差は見られなかった。昨年度も同様の測定・解析を行ったものの、測定結果に共通の傾向は認められず、味覚センサーを用いた産地判別は困難であると考えられる。ただし、商取引において味風味の安定性は非常に重要であり、それらを数値化できる機器の必要性は高く有用であることに変わりはない。

ハチミツの安定同位体比測定は既に異性化糖に関する偽和検査法として確立されていることから、産地判別・味の数値化の複合判定ができれば、ブランド化や希少性を示すことができる。これまでの結果から、特定の生産国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. 国産清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。

安定同位体測定で判別を付ける可能性については大きな前進であるが、装置を所有する検査機関は少なくこれらの技術が広まる可能性は低い。そのため、本研究においては小型で導入しやすい味覚センサーを用いた比較が可能かどうか検討したものである。味覚センサーについては味の数値化が可能であるため同一銘柄の安定生産の指標となる可能性もある。

本研究では各道府県で生産された清酒について、①地域差の読取り、②同一地域内生産品において偏りが見られるか、の2点について解析を行った。①では20道府県の各1点について測定を行い地域差等認められるかを検討したが、規則性や偏りは見られなかった。②では新潟県内製造品について各銘柄について測定を行なったが、測定プロット図上に偏りは見られず、産地の判別は困難であった。酒造が盛んな地域では各酒蔵で醸造文化が根付いており、安定した品質での製造を目指すため原料や水、発酵酵母など一貫して酒蔵独自のものが使用される。そのため工夫が清酒の旨味・複雑さを生み出すため、味覚センサーで数値化されるものは地域性よりも各銘柄の差となっている可能性が考えられる。

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-消費者双方にとって重要な位置づけにある。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の利用について検討を行っていたが、複雑な味を醸し出す類の生産品の判別は困難であった。

安定同位体によるハチミツ産地判別については炭素-酸素安定同位体比の組合せによる特定の原料花の区別が有効とされているが、本研究の独自性としてハチミツに含まれるタンパク質を対象に判定を行うため、原料花の種類に依存しない国別判定を目指す。本手法は異性化糖混入判定と同時に行うことができることが利点である。次年度は引き続きデータを収集するとともに、市販品のブラインドチェックを行い、ハチミツ産地判別の有効性を検証するものとする。

以上