

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 28 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	5
4. 年度別の成果	5
4-1 平成 23 年度の成果	5
4-2 平成 24 年度の成果	5
4-3 平成 25 年度の成果	6
4-4 平成 26 年度の成果	6
5. 平成 27 年度の研究内容	7
6. 研究成果の概要	7
7. 研究結果	10
7-1 【研究 A】 トウモロコシの抽出油における国内外判別の可能性について	10
7-2 【研究 B】 生米の産地判別及び炊飯による米の産地判別への影響	13
7-3 【研究 C】 魚介類の同位体比の利用に関する研究	18
8. 総合所見	23
9. 文献	23
巻末資料	24

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、ほとんどの機関で原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、原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少ない。また、今までの報告では製品の原料を対象としたものが多く、加工品についてはうなぎ⁴など一部の報告に限られ、まだまだ少ないのが実状である。

農産物や魚介類を脱脂乾燥し、そのまま測定サンプルとするバルク分析は多くの研究が報告されているが、多くの成分が混在したバルク分析ではそれぞれの成分の安定同位体比が影響しあい、産地判別が難しくなる。そこで、本研究では成分の抽出分や抽出残差を測定することで、より精度の高い産地判別を試みた。また、産地判別の需要は加工食品において今後ますます増

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）

⁴ 引用文献③（第 6 項参照）

えると予想されるが、熱や水分、調味料によって加工された商品の原材料産地判別は、加わる工程が多いほど困難となる。そこで、まずは熱と水分を加えた加工の前後でどれだけ安定同対比に変動が起きるのか検証し、安定同位体比分析で加工食品の原材料産地判別が可能か調査した。

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
平成 26 年度	内容	—	トウモロコシの産地判別 竹の子の前処理及び部位による同位体比変動に関する研究 魚介類の同位体比の利用に関する研究
	結果	—	トウモロコシの国産、海外産の産地判別の可能性 前処理による同位体比変動についての知見 魚介類の生育条件判別の可能性について
平成 27 年度	内容	—	トウモロコシの抽出油における産地判別の研究 生米の産地判別及び炊飯による米の産地判別への影響に関する研究 魚介類の同位体比の利用に関する研究
	結果	—	トウモロコシの国産、海外産の産地判別の可能性 生米の産地判別及び前処理による同位体比変動についての知見 魚介類の生育条件判別の可能性及びサンプル採取部位の違いの影響について

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もあり、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 を用いたことにより、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しぼり、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、精度については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。

4-3 平成 25 年度の成果

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、原産地及び原料別に比較した。原料については、ガスクロマトグラフ装置を前処理装置に使うことで、より高精度で原料判別が可能となり、同じ C4 植物であるサトウキビ、糖蜜及びトウモロコシについても、炭素同位体比で判別できる可能性が示された。

原産地判別の一部の産地については、同じ原料であっても原産地判別できる可能性が見いだされたが、水素及び酸素の同位体比のばらつきが大きく、今後水素・酸素同位体比測定についてもガスクロマトグラフ分析装置を前処理装置に用いた分離分析による高精度な安定同位体比測定により、原産地判別をする必要があると考える。

飲料酒の原料・原産地判別では、国内外問わず日本酒、焼酎、ウイスキー及びリキュール類合計 105 種類の検体について比較研究した。

石川県及び北海道産の日本酒及び麦焼酎については、特徴的な同位体比であることから、産地判別が可能である。また、ウイスキー及びリキュール類については、国内外及び国内（大分・北海道）での判別が可能であることが示された。酸素・水素測定については、飲料酒中の水による影響が多くでている傾向があることから、今後エタノール判別と同様に分離分析による測定で、より多くのファクターから原料・原産地判別を判断することが必要だと考える。

トウモロコシの産地判別精度向上に関する研究では、可食部の部位ごとの同位体比の変動について研究した。胚部分については、同位体比の変動が大きく、同産地・同品種であっても 1‰ものばらつきが確認された。胚、実及び皮部分のそれぞれの同位体比を比較すると皮部分の同位体比がもっとも安定した値となることが確認された。トウモロコシについては、皮部分がもっとも安定的に同位体比測定をする部位であることが確認されたが、その他の植物体の同位体比を測定する際には、個々に同位体比が安定している特定部位を選別して分析していくことで安定な分析値が得られると考えられる。

4-4 平成 26 年度の成果

トウモロコシの産地判別に関する研究では、海外品と国産品で酸素及び窒素同位体比プロットによる産地判別の可能性が示された。特に海外品の窒素同位体比は、国内品に比べてばらつきが少ないことが確認された。

前処理による同位体比変動に関する研究では、成長が早いタケノコをサンプルとし、部位間による同位体比の差及び、加工前後での同位体比の変化を確認した。タケノコの部位比較では特に窒素同位体比で差が大きく見られた。また、水煮加工時及び測定の前処理時に行う乾燥条件による同位体比の変動を確認したところ、十分に加熱調理された水煮であり、測定処理時の乾燥を十分に行えば、安定した数値が得られることが示された。

魚介類の安定同位体比の利用に関する研究では、天然品の魚介類は餌の種類も幅広く、移

動するため産地判別は難しいが、大型魚のブリやクロマグロについては、天然品と養殖品間で差異が確認された。これは養殖期間における給餌の影響と推測された。

5. 平成 27 年度の研究内容

平成 23 年度から平成 26 年度の成果を踏まえ、本年度は次の研究を行った。

【研究 A】 トウモロコシの抽出油における国内外判別の可能性について

昨年度までに炭素、窒素及び酸素を測定したトウモロコシサンプルの油を抽出し、抽出油と実による産地判別の確度向上を試みた。

【研究 B】 生米の産地判別及び炊飯による米の産地判別への影響

国内産及び外国産の生米を収集し生米の産地判別を試みた。また、炊飯米の同位体比から、前処理の同位体比に対する影響を確認した。

【研究 C】 魚介類の同位体比の利用に関する研究

川魚であるサケの仲間について、天然養殖判別を試みた。また、マグロ類及びイカ、カニ類のサンプル採取部位の違いが安定同位体比でどのように影響するかどうかを確認した。

6. 研究成果の概要

平成 27 年度の研究成果の概要は以下の通りである。

① 【研究 A】 トウモロコシの抽出油における国内外判別の可能性について

昨年度の成果として、トウモロコシの実を測定したプロット（窒素×酸素プロット）によりトウモロコシの国内外産地判別の可能性が示された。トウモロコシの実サンプルは油分を多く含んでいるため、測定前に脱脂しているが、その脱脂分にも産地判別のファクターがある可能性があることから、実から油だけを抽出して測定し、バルク分析ではできなかった産地判別の確度向上を試みた。

抽出油の炭素安定同位体比は実の値よりも低く、酸素安定同位体比と合わせてプロットすると、実のプロットよりも産地間の幅が広がるため、実のプロットだけでは特定できなかった判別もできる可能性がある。

緯度と安定同位体比の関係からトウモロコシの産地を考察したが、降水の同位体比の傾向と、実及び抽出油の酸素安定同位体比は同じ傾向にならなかった。産地判別には、水素安定同位体比等の更なるデータや、より詳細な生産地の情報が必要である。

② 【研究 B】 生米の産地判別及び炊飯による米の産地判別への影響

ブランド米の産地を科学的に証明する手段として、安定同位体比測定を行い生米の産地判別を試みた。

生米の産地判別において、安定同位体比プロットでは国内品と外国品が近接し、特に一部の外国産（主にアジア品）は、国内品のプロットと重なるため、重金属による判別などとの併用が必要である。しかし、ヨーロッパ品のプロットは濃縮し、国内品と重ならないプロットがみられたことから、国を限定しての真偽判定であれば判定できる可能性がある。

加工品である炊飯米にもブランド米が用いられることが多くなったことから、炊飯による加熱及び加水の同位体比への影響を研究した。

炊飯前後の同位体比の変動は少なく、炊飯加工による窒素、炭素及び酸素安定同位体比への影響はほとんどないと考えられる。ただし、測定前の炊飯米サンプルの十分な乾燥が必要である。よって加熱加工された炊飯米でも、生米のプロットを使用して産地判別ができる可能性があることから、生米の産地判別の確立及び、加工品への応用が期待される。

③ 【研究C】魚介類の同位体比の利用に関する研究

昨年度海洋の魚介類について同位体比測定を行い、天然養殖判別ができる可能性が示されたことから、今年度は川魚の測定を試みた。炭素、窒素安定同位体比から川魚であるサケ類でも天然養殖判別の可能性が見出された。

また、マグロ類において、サンプル部位の違いが天然養殖判別に影響を与えるか確認した。内臓を除くそれぞれの部位は、脱脂操作を行うことによって大きな違いは見られなかったことから、違う部位の同位体比の比較から天然養殖判別は可能である。イカ・カニ類によるそれぞれの部位には安定同位体比に差が見られたことから、これらを混ぜて比較判別することはできないと考えられる。

【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。

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

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】 トウモロコシの抽出油における国内外判別の可能性について

トウモロコシ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、酸素及び水素同位体比は原産地の環境を反映し、窒素同位体比は土壌中の窒素源（肥料等）を反映すると言われている。

昨年度の成果として、トウモロコシの実を測定したプロット（窒素×酸素プロット）によりトウモロコシの国内外産地判別の可能性が示された（図1）。

文献によると、魚に含まれる油は、体内で合成される際に同位体分別が起こるため、一般的に身よりも炭素安定同位体比が軽くなるとされている⁵ことから、油分の多いサンプルは脱脂して測定することが通例である。これは植物にも当てはまると考えられるが、その脱脂分にも産地判別のファクターがある可能性があることから、今年度はサンプルから油だけを抽出し測定することで、バルク分析ではできなかった産地判別の確度向上を試みた。

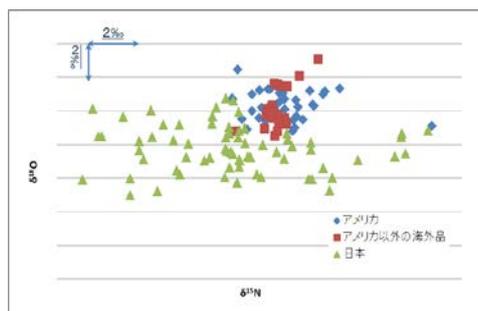


図1 トウモロコシ実
【窒素×酸素】同位体比プロット
(2014年度実績)

7-1-1 測定サンプル

国内産 11 検体，外国産 18 検体の計 29 検体を分析に供した。表1に分析対象サンプルを示す。

7-1-2 分析方法

凍結乾燥させ粉砕したトウモロコシ実サンプルに、クロロホルム-メタノール溶液（以下、ホルチ液という）を加え、遠心分離機にかけて上澄みを採取した。採取した上澄みからホルチ液を揮散し、残った油をサンプルとした。抽出油の炭素及び酸素安定同位体比について安定同位体比を測定した。分析装置及び分析方法⁶は以下の通りである。

炭素同位体比（ $\delta^{13}\text{C}$ ）： EA-IRMS 法

酸素同位体比（ $\delta^{18}\text{O}$ ）： TC/EA-IRMS 法

7-1-3 測定結果及び考察

昨年度の実の結果（炭素，窒素及び酸素）と抽出油の結果（炭素，酸素）を合わせ、表2にプロットした。また、関連データを図2及び図3に示した。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 炭素安定同位体比において、抽出油の値が実よりも総じて値が低くなった（図2）。また、抽出油のばらつきは実のばらつきの2倍であった（実 $\delta^{13}\text{C}$ $\sigma = 1.5\text{‰}$ ，抽出油 $\delta^{13}\text{C}$ $\sigma = 3.6\text{‰}$ ）。酸素安定同位体比については抽出油の値は実の値とほとんど変わらず、ばらつきについては抽出油が多少大きくなった（実 $\delta^{18}\text{O}$ $\sigma = 13\text{‰}$ ，抽出油 $\delta^{18}\text{O}$ $\sigma = 16\text{‰}$ ）。

表1 トウモロコシサンプル

国内／海外	産地	検体数
国内産	北海道	3
	関東	1
	九州	7
外国産	アメリカ	6
	ウクライナ	3
	フランス	1
	ブラジル	4
	アルゼンチン	2
	南アフリカ	1
	メキシコ	1
合計		29

⁵ 引用文献④（第6項参照）

⁶ 分析条件は巻末資料参照

② 実と抽出油のそれぞれの炭素×酸素プロットを比較すると、実ではどの国も近い位置に濃縮されていたプロットが、抽出油ではサンプル間のプロットが広がったことにより、産地判別ができる可能性が広がった。抽出油の炭素安定同位体比ではブラジル品が高く、ついでウクライナ・フランス品、アメリカ品、日本品の順で低くなる傾向がみられた。また抽出油のメキシコ品は炭素安定同位体比が高く、酸素安定同位体比が低い点にプロットされた。このことから、トウモロコシの実全体の測定では判別できない場合でも、抽出油を測定することで、判別に使用できる可能性が示された(図3)。

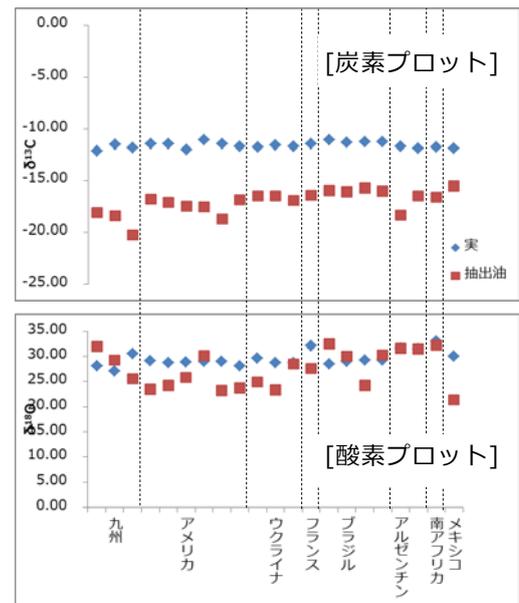


図2 実と抽出油の変動プロット

③ 炭素と酸素の安定同位体比について、緯度との関係性を研究した(表2)。海外品の具体的な生産地は不明であったため、緯度の値は国の中心地の値を使用した。

酸素の安定同位体比は産地の環境が反映されることから、降水による水の影響を受けるとされている。降水の同位体比は多くの機関で分析されているが、赤道に近いほど値が重く、極に近づくほど値が軽くなることが知られている。これは、気温の高い赤道付近の海水では水が蒸発し多量に雨雲ができる。その雨雲は風に乗ってより寒冷な地域へ流れていく。移動時に雨を降らせるが、その際質量の重い(同位体比の高い)水から降水していくため、世界全体でみると、赤道に近い地域ほど水の安定同位体比が高く、極へ向かうほど低くなるためである。

各国の平均値を計算しプロットしたところ(1サンプルしかないものはその値)、南半球に位置する南アフリカ品とアルゼンチン品の酸素安定同対比が高くプロットされた。この2国はより赤道に近いブラジル品よりも高い値であり、緯度と降水の酸素安定同位体比の関係と合わないものであった。降水の安定同位体比は山岳の有無など地理的条件によって近い地域でも多少差がでるため、実際にどの地域で生産されたものなのかより詳細なデータを用いての考察が必要である。また、今後水素安定同位体比でも同じ傾向があるか確かめたい。

7-1-4 小括

トウモロコシの抽出油の分析による産地判別についての研究で明らかとなった事項は以下の通りである。

- (1) 抽出油の炭素安定同位体比は実よりも低く、酸素安定同位体比と合わせてプロットすると、実のプロットよりもサンプル間の幅が広がるため、実のプロットだけでは特定できなかった判別もできる可能性がある。
- (2) 緯度と降水の安定同位体比の関係からトウモロコシの産地を考察したが、降水の同位体比の傾向とは必ずしも一致しなかったことから、産地判別には、水素安定同位体比等の更なるデータや、より詳細な生産地の情報が必要である。

表2 トウモロコシの実と抽出油の安定同位体比比較

分類	【炭素×酸素】プロット	【緯度×炭素】プロット	【緯度×酸素】プロット
実			
抽出油			
所見	<p>実では炭素安定同位体比も酸素安定同位体比も近い位置に濃縮されていた各国のプロットが、抽出油ではプロットが広がったことにより、産地判別ができる可能性が広がった。緯度と安定同位体比を比較すると、実の酸素安定同位体比の各国平均値は、南半球に位置する南アフリカ品とアルゼンチン品の酸素安定同対比が高くプロットされた。この2国はより赤道に近いブラジル品よりも高い値であり、緯度と降水の酸素安定同位体比の関係と必ずしも一致しないものであった。降水の安定同位体比は山岳の有無など地理的条件によって近い地域でも多少差がでるため、実際にどの地域で生産されたものなのかより詳細なデータを用いての考察が必要である。水素安定同位体比でも同じ傾向がみられるか今後確認したい。</p>		

7-2 【研究B】生米の産地判別及び炊飯による米の産地判別への影響

日本人の主食でもある米は、全国的な規模で独自品種の開発に力が入れられており、各生産地がブランド米を販売している。新潟県の魚沼産コシヒカリや北海道産のゆめぴりか等は高級ブランド米の代表格として知られる。

ブランド米では、米の品種だけでなく生産地が付加価値情報となるが、遺伝子分析だけでは生産地を特定することはできない。そこで安定同位体比を用いて、米の生産地の特定を試みた。

また、昨今ではすでに炊飯され加工された炊飯米にもブランド米を使用し差別化をはかっている商品がある。しかし、水と熱を加え加工された炊飯米は、同位体変動の恐れがあり、生米よりも生産地の特定が難しいと予想される。そこで、炊飯前前後の同位体比を比較し、安定同位体の交換について研究した。

7-2-1 測定サンプル

国内産 110 検体、外国産 11 検体の計 121 検体を分析に供した。表 3 に分析対象サンプルを示す。

また、上記サンプルのうち、国内産 6 検体、外国産 3 検体を炊飯し安定同位体比を測定した。炊飯方法は以下の通りである。生米 1g をリアクティブバイアルに取り、純水 1.4mL を加え、2 時間 110℃ で加熱した。加熱後、1 時間米を蒸らし、炊飯米とした。この炊飯米を凍結乾燥させたもの、また凍結乾燥後さらに 60℃ の恒温槽で 3 時間乾燥させたものをそれぞれ測定サンプルとした。炊飯に使用した純水の酸素安定同位体比の測定も同時に行った。

7-2-2 測定方法⁷

元素毎の同位体比の測定は下記による。
 炭素同位体比 ($\delta^{13}\text{C}$) : EA-IRMS 法
 窒素同位体比 ($\delta^{15}\text{N}$) : EA-IRMS 法
 酸素同位体比 ($\delta^{18}\text{O}$) : TC/EA-IRMS 法

7-2-3 測定結果及び考察

(1) 国内産と外国産の生米の産地判別

測定結果を表 4 に示す。

3 元素のうち 2 元素ずつ組み合わせてプロットさせたところ、炭素×酸素プロットでは、中東・ヨーロッパ品の値は濃縮しており、判別の可能性がある。炭素×窒素及び窒素×酸素プロットでは、それぞれのプロットの重なりが大きく、判別は困難であった。国内品は幅広くプロットされ、一部アジア品とも重なってくるため、炭素、窒素及び酸素安定同位体比のファクターだけで国内品の産地判別することは難しいと推測されるが、判定する国を限定した真偽判定であれば判定できる可能性がある。

表 3 生米サンプル

日本／海外	産地	検体数	炊飯試験
日本	北海道	9	2
	岩手	1	—
	秋田	9	1
	山形	16	—
	新潟	7	1
	茨城	16	—
	栃木	6	—
	埼玉	3	—
	長野	1	—
	兵庫	1	—
	高知	22	—
	愛媛	4	—
	香川	6	—
	福岡	2	1
	沖縄	1	1
	山梨	1	—
	石川	3	—
	滋賀	1	—
	大分	1	—
海外	アメリカ	1	—
	カナダ	1	—
	カルフォルニア	2	1
	イタリア	1	—
	中国	1	1
	タイ	3	—
	パキスタン	1	—
スペイン	1	1	
合計		121	9

⁷ 分析条件は巻末資料参照

(2) 国内品の産地判別

測定結果を表5に示す。

炭素×酸素プロットでは、新潟品の炭素安定同位体比が低く、まとまってプロットされた。四国品が沖縄品や北海道品などと重なって幅広くプロットされたため、その他の地域の判別は難しい。

四国品を除いた日本国内のプロットにすると、炭素×酸素プロットでは沖縄品と九州品の酸素安定同位体比が高く近接してプロットされた。対して、北海道品の酸素安定同位体比は低く、沖縄・九州品との区別はできそうである。

炭素×窒素プロットにおいて、一部を除く新潟品の炭素及び窒素安定同位体比は低めにプロットされた。また、北海道の一部のサンプルが新潟品と重なってプロットされた。

酸素×窒素プロットでは北海道、新潟、沖縄品が近接してプロットされた。北海道品は窒素同位体比によって2つのグループに分かれてプロットされた。九州品は2サンプルしかないが、窒素安定同位体比に大きく差がみられた。植物の窒素同位体比は土壌の状態や使用した肥料が影響する⁸ことから、栽培方法の違いが反映されたと思われる。

四国内のプロットでは、炭素×酸素プロットで、一部の香川品が高くプロットされた。しかし、炭素、窒素及び酸素安定同位体比のすべてで3県が幅広く重なってプロットされたため、産地判別は難しい。

植物において生育環境が乾燥状態のときに炭素安定同位体比が高くなる傾向が知られている⁹が、今後サンプル数を増やして確認したい。

(3) 炊飯による同位体比の変動

昨年度のタケノコの前処理に関する研究において、水煮に使用した水がサンプル表面に残ると安定同位体比に影響を与えることが示された。そこで、炊飯の測定サンプルを2つの乾燥条件で乾燥させ、乾燥条件の違いによる同位体比を検証した。乾燥条件は以下の通りである。

- ・凍結乾燥させたもの（凍結乾燥炊飯米）
- ・凍結乾燥後さらに恒温槽で乾燥させたもの（恒温槽乾燥炊飯米）

① 乾燥条件による違い（図4）

水素と酸素から成る水を使って加工する炊飯米は、加工前後で炭素及び窒素安定同位体比に大きな変動は見られなかった。例外として、中国品の炭素安定同位体比が大きく変化したが、原料が複数原料米であるため、生米として採取したサンプルと炊飯のために採取したサンプルの産地等が異なる可能性がある。また、このことから加熱加工による炭素、窒素安定同位体比の変動もないことが示された。

酸素安定同位体比は、凍結乾燥炊飯米及び恒温槽乾燥炊飯米とも生米よりも若干低い値を示した。また、凍結乾燥炊飯米よりも恒温槽乾燥炊飯米の方がわずかに生米に近い値を示す傾向があり、恒温槽での十分な乾燥が必要である。一方、使用した水の酸素安定同位体比は-0.6‰であり、凍結乾燥炊飯米及び恒温槽乾燥炊飯米の酸素安定同位体比はどちらも水よりも生米に近い値となった。

炊飯米の炭素、窒素及び酸素安定同位体比が生米の同位体比から大きく変化しなかったことにより、加熱加工された炊飯米のサンプルであっても生米のプロットを使用して産地判別できる可能性が示された。遺伝子判別と合わせれば品種及び産地判別が同時に行えることになり、

⁸ 引用文献⑥（第6項参照）

⁹ 引用文献⑤（第6項参照）

ブランド米を使用した炊飯米という付加価値を化学的に証明する大きな手段となる。

7-2-4 小括

生米の産地判別及び炊飯による米の産地判別への影響に関する研究で明らかとなった事項は以下の通りである。

- (1) 生米の産地判別は、国内品と一部の外国産であれば判別できる可能性がある。ただし、主にアジア品のサンプルが国内品のプロットと被るため、重金属による判別などほかの判別方法との組み合わせが必要である。
- (2) 炊飯米を加工する際に使用される水の影響は、炊飯米を十分に乾燥すれば、炭素、窒素及び酸素安定同位体比において影響はほとんどない。
- (3) 炊飯により加熱加工された炊飯米でも、生米のデータを用いて産地判別ができる可能性がある。加工品への応用が期待されることから、生米において明確に産地判別ができるデータベースが望まれる。

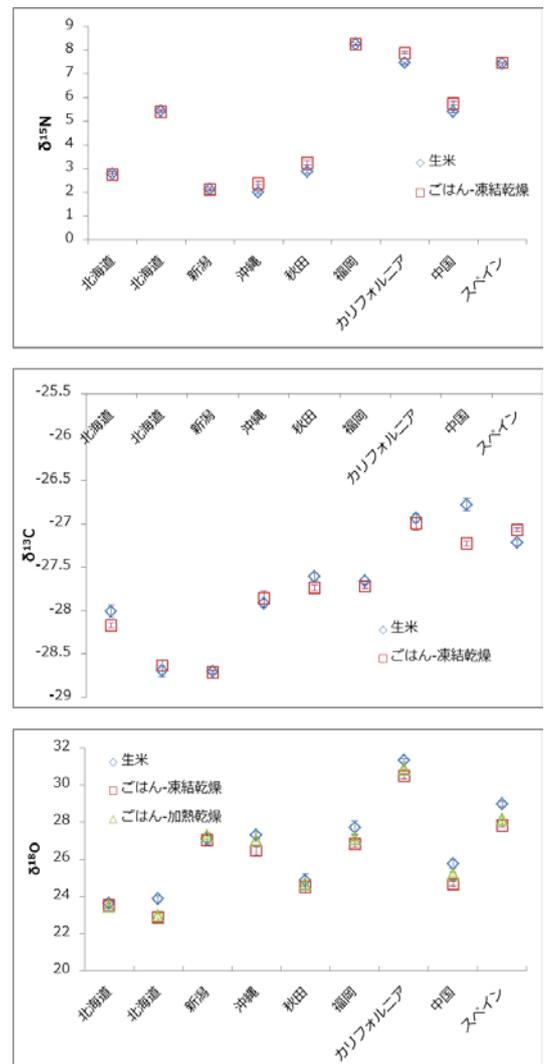


図4 生米と炊飯米の産地判別結果

表4 生米の国内外判別プロット

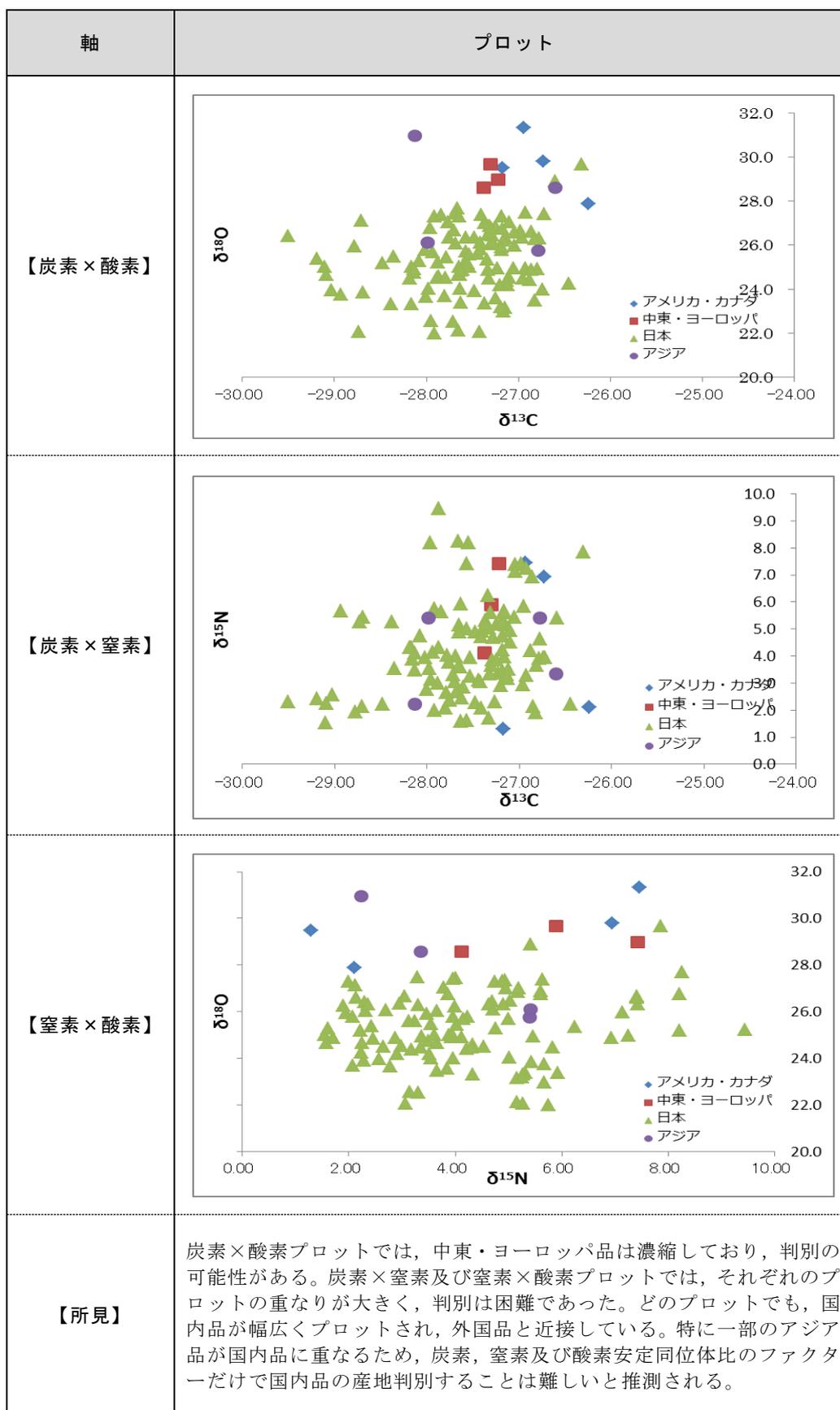
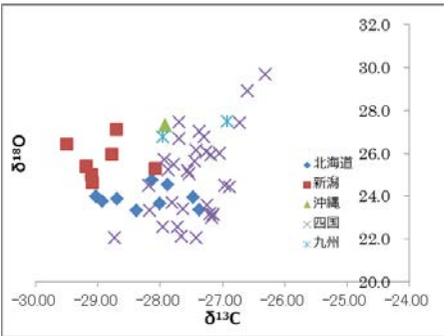
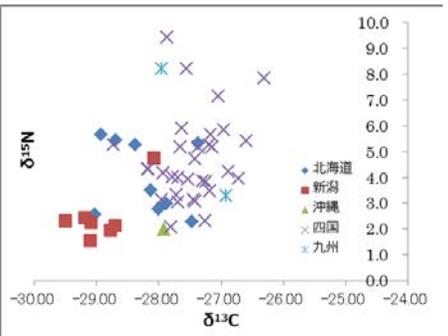
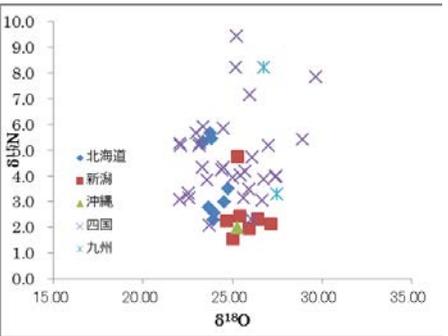
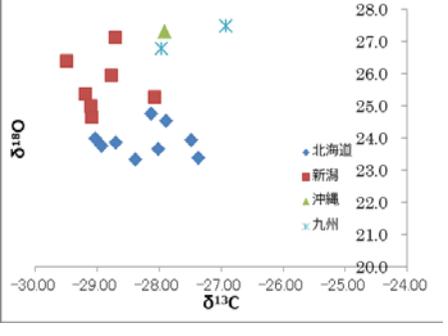
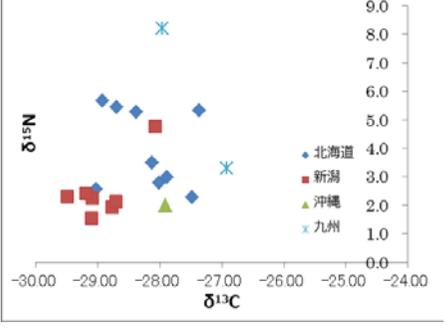
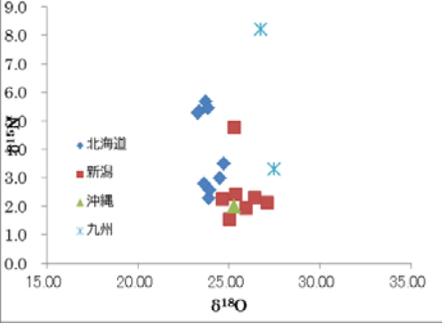
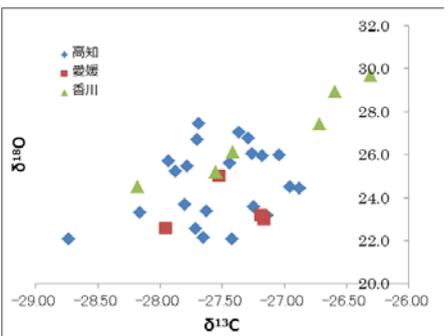
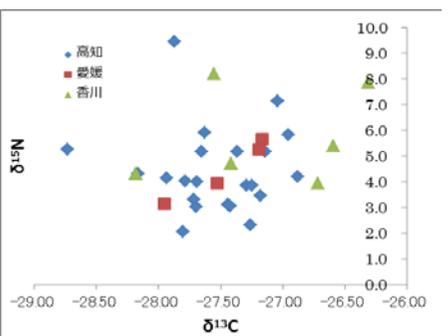
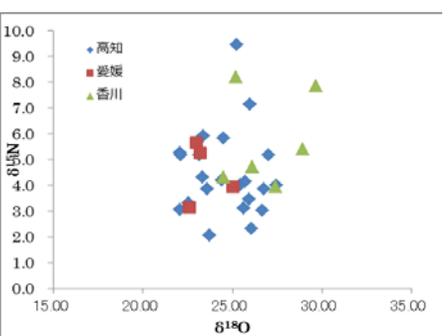


表5 生米の国内判別プロット

産地	【炭素×酸素】	【炭素×窒素】	【酸素×窒素】	所見
日本国内				<p>炭素×酸素プロットで、新潟品が濃縮されてプロットされた。四国品が幅広くプロットされ、その他の地域の判別は難しい。</p>
日本国内 (四国以外)				<p>炭素×酸素プロットでは、沖縄品と九州品の酸素安定同位体比が高く近接してプロットされた。対して、北海道品の酸素安定同位体比は低く、沖縄・九州品との区別はできそうである。</p>
四国内				<p>四国品を県ごとにプロットした(徳島品はサンプルなし)。香川品の一部において、炭素及び酸素安定同位体比が高くプロットされるサンプルがあった。その他のサンプルは重なってプロットされ、判別は難しい。</p>

7-3 【研究C】魚介類の同位体比の利用に関する研究

近年、ウナギやアユ等で天然養殖の偽装事件がしばしば報道されている。魚の天然養殖判別法では脂肪酸組成に着目した方法があるが、その他の方法はほとんど報告されていない。

当会の昨年度までの研究の中で、安定同位体比を用いたブリやクロマグロの天然養殖判別の可能性が示された（炭素×窒素安定同位体比プロット）。そこで今年度は川魚であるサケ類を測定し、天然養殖判別を研究した。

マグロ類は体長1mを超えるものも多く、身は脂ののり具合によって、赤身、中トロ、大トロ等に選別されて売買され、その価格も大きな差がある。安定同位体比判別のデータベースを作成する際、部位によって安定同位体比が違う場合、すべての部位において別々にデータを構築しなくてはならないため、採取サンプルの部位の違いによる安定同位体比の差を研究した。

さらに、イカ・カニ類についても、身と内臓の違いが安定同位体比判別にどう影響するかを研究した。

7-3-1 前処理方法

入手したサンプルは凍結乾燥させ、ホルチ液で簡易脱脂し表面に付着した油を取り除いた。

サンプルに付着したホルチ液を揮散させ、粉砕機で粉砕した後、粉体サンプルに改めてホルチ液を加えて遠心分離を行い、上澄みを除去した。ホルチ液を加えた遠心分離操作を3回繰り返し、恒温槽でホルチ液を乾燥させて測定用サンプルとした。

7-3-2 測定方法

元素毎の同位体比の測定は下記による。

炭素同位体比 ($\delta^{13}\text{C}$) : EA-IRMS 法

窒素同位体比 ($\delta^{15}\text{N}$) : EA-IRMS 法

酸素同位体比 ($\delta^{18}\text{O}$) : TC/EA-IRMS 法

7-3-3 分析結果及び考察

測定サンプル及び分析結果は以下の通りである。

(1) サケ類の天然養殖判別

サンプルを表7、結果を図5に示す。今回用いた魚はサケ科のサケ属に属する種類である。

国産品と輸入品の養殖ギンザケを比較してみると、国産品と輸入品は混在してプロットされている。他のサケ類でも国産品と輸入品のプロットは混在している。対して、天然養殖の観点から比較すると、ニジマスの輸入養殖品が天然品と重なるものの、養殖品は天然品に比べて炭素及び窒素安定同位体比が高い値を示す傾向にあり、川魚であるサケ類に関しても天然養殖判別の可能性が示された。魚類の天然養殖判別法にはアミノ酸の窒素安定同位体比を測定する方法も提案されており、脂肪酸組成とともに今後検討していきたい。

表7 サケ類サンプル

種類	産地	区分	検体数
ギンザケ	国産	養殖	2
	輸入	養殖	2
ベニザケ	輸入	天然	2
シロザケ	国産	天然	6
ニジマス	輸入	養殖	3
合計			15

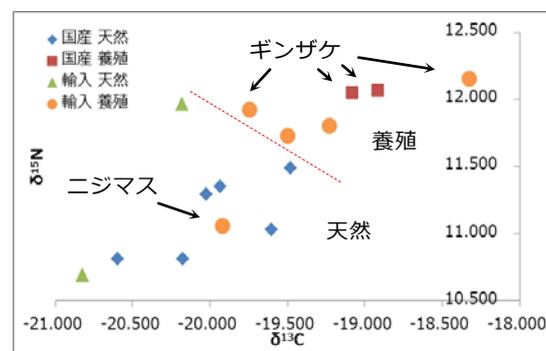


図5 サケ類の天然養殖判別

(2) マグロ類の部位別による同位体比比較

サンプルを表8, 結果を表10に示す。赤身, 中トロ及び大トロは同一個体試料である。メバチマグロの背及び腹のサンプルは同一個体中から採取されたものであり, 赤身, 中トロ, 大トロを採取した個体とは別であるため, 国産天然品に使用したメバチマグロは2尾である。

一般的なマグロ類の部位は, 腹上部分を大トロ, 背の一部と腹中から腹下にかけての比較的脂の多い部分を中トロ, 脂肪の少ない部分を赤身と呼ぶ。明確な判別はなく脂量によって赤身や中トロと判断される。今回用いた中トロ及び赤身サンプルは, 詳細な採取部位までは明確にできなかった。

窒素安定同位体比では, 1個体中の部位による値の差はほとんどなかった。クロマグロ及びミナミマグロでは国産・天然品と輸入・養殖品の違いが明確に現れ, 部位の違いによる同位体比の差は影響しない。メバチマグロでは, 国産・天然品の中で

も個体差がみられ, 天然・輸入品は国産・天然品の一部サンプルと近い値を示した。

炭素安定同位体比では, クロマグロの天然・国産品において, 1個体中で赤身サンプルが中トロ及び大トロサンプルよりも若干高いものもあるが, 判別に影響するほどの差は見られなかった。

酸素安定同位体比では, ミナミマグロの養殖・輸入品において, 1個体中で赤身サンプルが中トロ及び大トロサンプルよりも若干高いものもあるが, 天然品と養殖品の差がほとんどないため, 酸素安定同位体比をミナミマグロの天然養殖判別には使用できない。同様に, クロマグロでも酸素安

表8 マグロ類のサンプル

種類	産地	区分	部位	検体数
クロマグロ	国産	天然	赤身	1
			中トロ	1
			大トロ	1
	輸入	養殖	赤身	1
			中トロ	1
			大トロ	1
ミナミマグロ	国産	天然	赤身	1
			中トロ	1
			大トロ	1
	輸入	養殖	赤身	1
			中トロ	1
			大トロ	1
メバチマグロ	国産	天然	赤身	1
			中トロ	1
			大トロ	1
			背	3
			腹	3
	輸入	天然	赤身	1
			中トロ	1
			大トロ	1
合計				24

表9 イカ・カニ類のサンプル

種類	産地	区分	検体数
スルメイカ	国産	身	6
		内臓	6
ズワイガニ	国産	身	2
		内臓	2
	輸入	身	2
		内臓	2
ベニズワイガニ	国産	身	12
		内臓	4
合計			36

定同位体比に差がみられなかった。メバチマグロでは、窒素及び酸素安定同位体比で、国産・天然品の中でも個体差がみられ、輸入・天然品は国産・天然品の一部サンプルと近い値を示した。窒素安定同位体比で他の国産・天然品よりも低い値を示したサンプルは、酸素安定同位体比では他の国産・天然品よりも高い値を示した。

これらのことから、部位の違いによる安定同位体比の差は、脱脂操作を行うことでほとんど影響せず、主に窒素安定同位体比を測定することで、異なる部位を組み合わせても生育条件の判別が可能である。

(3) イカ及びカニ類の部位別による同位体比比較

サンプルを表9, 結果を図6に示す。

イカ及びカニ類では、身と内臓の窒素安定同位体比に差がみられた。イカ及びカニ類の内臓の安定同位体比では窒素安定同位体比が小さい傾向がある。また、スルメイカは炭素安定同位体比も、身よりも内臓の値が低い傾向にあることが確認された。窒素及び炭素安定同位体比は、天然養殖判別の重要なファクターであり、このことから違う部位同士を比較して判別を行うことは難しいと判断される。

7-3-4 小括

魚介類の同位体比の利用に関する研究で明らかとなった事項は以下の通りである。

- (1) 炭素、窒素安定同位体比を測定することで、サケ類をはじめとした川魚でも天然養殖判別ができる可能性がある。
- (2) マグロ類において、背や腹などの採取部位の違うサンプルの安定同位体比は、脱脂操作を行うことで差は見られず、これらを混ぜて天然養殖判別比較ができる。マグロ類の天然養殖判別では窒素安定同位体比に大きく差が出るが、種によって、炭素安定同位体比や酸素安定同位体比にも差がみられる。
- (3) イカやカニ類の身と内臓では安定同位体比に大きな差が見られたことから、これらを混ぜて比較判別することはできない。

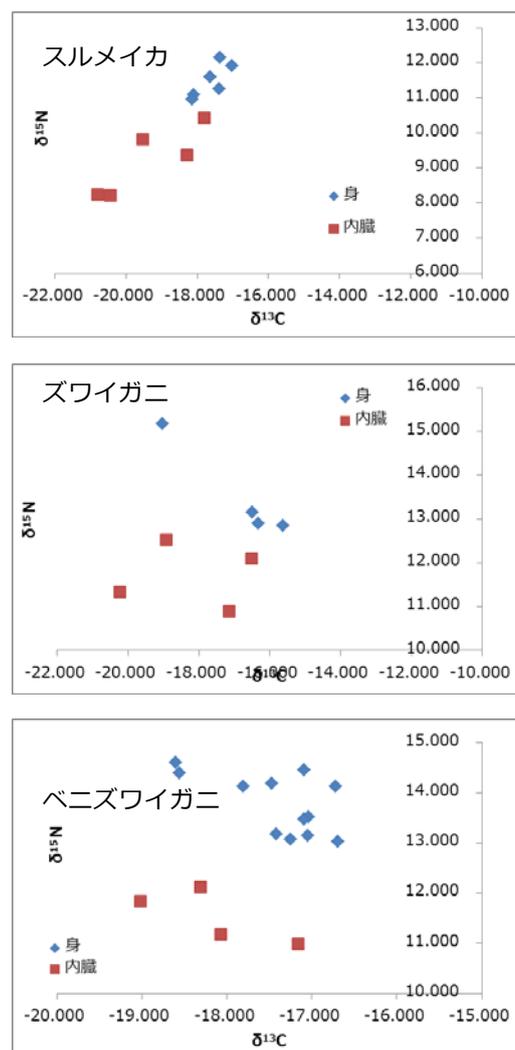


図6 イカ・カニ類の部位別比較

表 10 マグロ類の部位別安定同位体比比較

元素	プロット	所見
窒素		<p>窒素安定同位体比では、1個体中の部位による値の差はほとんどなかった。クロマグロ及びミナミマグロでは国産・天然品と輸入・養殖品の違いが明確に現れ、部位の違いによる同位体比の差は影響しない。メバチマグロでは、国産・天然品の中でも個体差がみられ、天然・輸入品は国産・天然品の一部サンプルと近い値を示した。</p>
炭素		<p>炭素安定同位体比では、クロマグロの天然・国産品において、1個体中で赤身サンプルが中トロ及び大トロサンプルよりも若干高いものもあるが、判別に影響するほどの差は見られなかった。クロマグロでは、国産・天然品と輸入・養殖品の違いが明確であり、部位の違いは影響しない。ミナミマグロでは天然養殖の違いはみられなかった。</p>
酸素		<p>酸素安定同位体比では、ミナミマグロの養殖・輸入品において、1個体中で赤身サンプルが中トロ及び大トロサンプルよりも若干高いものもあるが、天然品と養殖品の差がほとんどないため、酸素安定同位体比をミナミマグロの天然養殖判別には使用できない。メバチマグロでは、天然・国産品の中で差がみられ、天然・輸入品は天然・国産品の一部サンプルに近い値を示した。天然・国産品中の個体差は窒素とは逆の動きを示した。</p>

表 1 1 マグロ類における安定同位体比の比較

分類	【炭素×窒素】	【炭素×酸素】	【窒素×酸素】
クロマグロ			
ミナミマグロ			
メバチマグロ			
所見	<p>クロマグロでは、生育条件（天然・養殖等）の違いによってプロットが大きく分かれた。脱脂操作を行うことにより、違う部位同士でも生育条件の判別比較ができる。メバチマグロにおいて、輸入・天然品と国産・天然品が同じ位置にプロットされた。</p>		

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】 トウモロコシの抽出油における国内外判別の可能性について

抽出油の炭素安定同位体比は実よりも低く、酸素安定同位体比と合わせてプロットすると、実のプロットよりも幅が広がるため、実のプロットだけでは特定できなかった判別もできる可能性がある。緯度と降水の安定同位体比の関係からトウモロコシの産地を考察したが、降水の同位体比の傾向と、実及び抽出油の酸素安定同位体比は同じ傾向にならなかった。産地判別には、水素安定同位体比等の更なるデータや、より詳細な生産地の情報が必要である。

8-2 【研究B】 生米の産地判別及び炊飯による米の産地判別への影響

生米の産地判別において、安定同位体比プロットでは国内品と外国品が近接し、特に一部の外国産（主にアジア品）は、国内品のプロットと重なるため、重金属による判別などとの併用が必要である。しかし、ヨーロッパ品のプロットは濃縮し、国内品と重ならないプロットがみられたことから、国を限定しての真偽判定であれば判定できる可能性がある。

加工品の研究として、炊飯米を炊飯し水の影響を確認したところ、使用した水の影響は、炊飯米を十分に乾燥すれば、炭素、窒素及び酸素安定同位体比において影響はほとんどないことが示された。炊飯により加熱加工された炊飯米でも、生米のデータを用いて産地判別ができる可能性があることから、生米において明確に産地判別ができるデータベースが望まれる。

8-3 【研究C】 魚介類の同位体比の利用に関する研究

川魚の天然養殖判別を研究するため、サケ類の炭素、窒素安定同位体比を測定したところ、一部の輸入・養殖品が天然品と同じ位置にプロットされたが、大部分のサケ類サンプルで天然養殖判別の可能性が示された。

また、マグロ類において、サンプル部位の違いが天然養殖判別に影響を与えるか確認した。内臓を除くそれぞれの部位は、脱脂操作を行うことによって大きな違いは見られなかったことから、違う部位の同位体比の比較から天然養殖判別は可能である。イカ・カニ類によるそれぞれの部位には安定同位体比に差が見られたことから、これらを混ぜて比較判別することはできないと考えられる。

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 鈴木彌生子他, 安定同位体比によるウナギ加工品の産地判別の可能性
- ④ Logan JM, Lutcavage ME. A comparison of carbon and nitrogen stable isotope ratios of fish tissues following lipid extractions with non-polar and traditional chloroform/methanol solvent systems. Rapid Commun Mass Spectrom. Apr;22(7):1081-1086, 2008
- ⑤ 日本分析化学会 表示起源分析技術研究懇談会 編, 食品表示を裏付ける分析技術
- ⑥ 高津文人, 窒素安定同位体比による富栄養化診断, 水文・水資源学会誌, 19(5), (2006)

卷末資料

表 安定同位体比の測定条件

表 安定同位体比の測定条件

分析装置	測定条件	詳細
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°C
	還元炉の温度	1000°C
	分離カラムの温度	40°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°C
	分離カラムの温度	70°C
	標準物質	IAEA-601, Benzoic Acid IAEA-602, Benzoic Acid USGS34, Potassium Nitrate Coumarin (Indiana University) C-36 (Indiana University)