

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 30 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. これまでの成果	5
5. 平成 29 年度の研究内容	7
6. 研究成果全体の概要	7
7. 研究結果	9
7-1 【研究 A】脂肪酸同位体比の活用について	9
7-2 【研究 B】コーヒー豆の地域判別の可能性	12
8. 総合所見	15
9. 引用文献	15
巻末資料	16

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・原産地・天然養殖の違いなどを識別するものである。分析対象とされる炭素(C)・窒素(N)・酸素(O)の軽元素同位体比は農産物が育った環境条件を反映するため、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、殆どの機関で原材料及び原産地を識別するための手法としては、まだ実用化には至っていないとは言えない。

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・農産物・海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¹。

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も繋がる。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²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³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渣を測定することで、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えると予想されるが、加熱や水分・調味料を加えるなどで加工された製品の原料産地判別は、加えられた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によってどれだけ安定同対比が変動するのかを検証し、安定同位体比分析が加工食品の原

¹ 巻末第9章 引用文献(1) 参照

² 巻末第9章 引用文献(2) 参照

³ 巻末第9章 引用文献(3) 参照

材料産地判別に適用可能かを調査する。

3. 年度別スケジュール

年度	分類			テーマ/目的	成果 (判別については可能性を記載 ⁴)
	エタノール	農産物	魚介類		
平成 23 年度	○	—	—	● 海外産エタノールの原料・産地判別	● アルコールの原料が判別できる (C3 植物・C4 植物・合成エタノール)
	—	○	—	● 種々の品目についての検討 (落花生・桃・さくらんぼ・お茶・繊維・コーヒー・植物油)	● 脱脂処理することで落花生の国内外産判別ができる (測定部位を限定)
平成 24 年度	○	—	—	● 海外産エタノールの原料・産地判別	● 工場単位で判別できる ● 発酵・蒸留過程で同位体分別が起きている ● バルク分析から分離分析 (GC/C/IRMS) にしたことで精度が向上した
	—	○	—	● 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	● サンプルを脱脂しても判別精度は向上しない
平成 25 年度	○	—	—	● 外国産エタノールの原料・産地判別 ● 飲料酒の産地判別	● 分離分析法の導入でエタノールの原料・産地判別の精度が向上した ● 日本酒・焼酎・ウイスキー・リキュール類などの産地が判別できる (GC/C/IRMS 法)
	—	○	—	● 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	● 測定部位を限定することで判別精度が向上する
平成 26 年度	—	○	—	● トウモロコシの産地判別 ● タケノコの前処理及び部位による同位体比変動に関する研究	● トウモロコシでは、窒素×酸素プロットで国内外の産地の判別ができる ● タケノコでは採取部位の違いが同位体比に大きく影響する (窒素安定同位体比)
	—	—	○	● 魚介類の同位体比の利用に関する研究	● ブリヤクロマグロ (大型魚) は、天然と養殖とで安定同位体比が相違する
平成 27 年度	—	○	—	● トウモロコシの抽出油による産地判別の研究	● トウモロコシの抽出油を分析することで、種子よりも精度よく産地が判別できる
	—	○	—	● 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	● 生米による産地判別は困難である ● ヨーロッパ産と国内産との判別は可能 ● 米は炊飯加工しても安定同位体比は殆ど変化しない
	—	—	○	● 魚介類の同位体比の利用に関する研究	● サケ類の天然養殖判別は可能である ● マグロ類は脱脂しても部位による同位体比は大きく変わらない ● 甲殻類は筋肉と内臓とで同位体比が大きく相違する
平成 28 年度	—	○	—	● 統計手法を用いたトウモロコシの産地判別	● 統計解析をすることでトウモロコシの国産/外国産の高確率判別の可能性がある
平成 29 年度	—	○	—	● 落花生の抽出油、脂肪酸同位体比の活用	● バルク分析では出来なかった国内判別が出来る可能性が見出された
	—	○	—	● コーヒー豆の地域判別の可能性	● 生豆と焙煎豆とで同位体比が大きく挙動することを確認した ● 地域判別できる可能性を見出した

⁴ データベースを構築するほどの検体を分析していないため、判別の可能性について記載した。

4. これまでの成果

本研究の成果について以下の通り年度別に要約した。

4-1 平成 23 年度の成果

- (1) エタノール …… 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結果、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。
- (2) 農産物（落花生） …… 落花生の産地を判別するため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。そこで落花生を脱脂して測定した結果、判別精度を向上させることができた。測定部位を限定することが有効である。

4-2 平成 24 年度の成果

- (1) 同位体比分別 …… 東南アジア産の糖蜜エタノールの原料であるサトウキビ・糖蜜・水の同位体比を測定した結果、原料とエタノールの酸素・水素同位体比が明確に識別された。すなわち、発酵、蒸留など製造工程における同位体効果⁵が最終製品のエタノールに反映されることが確認された。
- (2) エタノールの国別・工場別判別 …… 工場によって特異な同位体比を示すものがあることから、地域や工場別に判別できる可能性が示された。また、精度向上を目的として分析装置 GC/C/IRMS を用いて炭素安定同位体比を測定した結果、バルク分析よりも高精度に産地判別の精度を向上させることができた。
- (3) トウモロコシ産地判別の精度向上 …… より高精度な判別法を目的としてサンプルの脱脂を試行したが、精度は向上しなかった。

4-3 平成 25 年度の成果

- (1) エタノールの原料判別の高精度化 …… 炭素安定同位体比測定にガスクロマトグラフィー（分離分析）を適用することで高精度な判別が可能となった。同じ C4 植物のサトウキビ、糖蜜及びトウモロコシであっても炭素同位体比で判別できる可能性が示された。
- (2) エタノールの原産地判別 …… 一部の産地で同じ原料でも産地判別できる可能性が示されたが、水素・酸素の同位体比の測定値にばらつきが大きく（バルク分析）、安定した値を得ることができなかった。課題は、エタノールの場合と同様に GC/C/IRMS 法を適用して高精度化を図ることである。
- (3) 飲料酒の原料・原産地判別 …… 国内外産の日本酒・焼酎・ウイスキー・リキュール類など、計 105 種類のサンプルについて研究した。北海道産及び大分県産の日本酒・麦焼酎の同位体比が特異なプロット領域を占めたことから、産地判別の可能が示された。ウイスキー・リキュール類については国内外および国内（大分・北海道）での判別が可能である。

酸素・水素同位体比については飲料酒中の水の影響が想定されることから、エタノールと同様にガスクロマトグラフィーによる分離分析によって原料・産地判別する必要がある。

- (4) トウモロコシ産地判別の精度向上 …… 可食部の部位ごとの同位体比の変動を調査した。胚部については個体ごとの同位体比測定値の差が 1‰ と大きく、同じ産地・品種間でも大きな差異が認められたため、胚部を産地同位体比判別には使用することは難しい。胚・種子・皮の各同位体比を比較すると、皮の同位体比が産地の違いを明確に識別できることが確認された。

⁵ 同位体効果とは、原子を同位体で置換したときの物理的・化学的な挙動に差異が生じる現象を言う。同位体効果により変化した同位体組成を比較することで、その物質がどのようなプロセスを経てきたかを推定することができる。

植物サンプルは部位によって同位体比のばらつき（偏差）が大きいことがあるため、測定する際は、同ロットサンプルにおいてばらつきの小さな部位を選定し、選別して分析する必要がある。

4-4 平成 26 年度の成果

- (1) トウモロコシの産地判別 …… 国内外で製造されたトウモロコシについては、酸素・窒素同位体比の測定によって産地判別できる可能性が示された。特に外国産の窒素同位体比は国産に比べてプロット領域が集中するため国内品との判別が容易である。
- (2) タケノコの前処理による同位体比変動 …… 部位の違いと同位体効果の影響を確認するため、その影響が現れ易いと考えられる成長の早い植物を選定して調査することとした。そこでタケノコをサンプルとして、部位ごとの同位体比の相違並びに加工前後の同位体比の変動を調査した。部位の違いによる差異が大きく現れるのは窒素同位体比であることを確認した。
- (3) タケノコの水煮加工による同位体比の変動 …… タケノコについて、サンプル前処理（乾燥条件）による同位体比の変動を調査した結果、加熱調理（水煮）されたものでも⁶十分に乾燥すれば安定した値が得られることを確認した。
- (4) 魚介類の安定同位体比 …… 天然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。しかし、大型魚のブリやクロマグロについては、天然品と養殖品とで差異があることが確認された。この差異は養殖期間中の給餌の影響によるものと考えられる。

4-5 平成 27 年度の成果

- (1) トウモロコシの抽出油による産地判別 …… トウモロコシから油分を抽出し、炭素及び酸素安定同位体比を測定した。抽出油の同位体比プロットは、種子のプロットよりも産地間に差が見られ、判別の精度向上がみられた。
- (2) 生米及び炊飯加工米の産地判別 …… 生米ではヨーロッパ等の、産地を限定した判別で産地判別の可能性が示された。炊飯加工米では、炊飯前後の安定同位体比に大きな変化はみられなかったことから、炊飯加工米でも生米のデータベースを使用できる可能性が示唆された。
- (3) 魚介類の天然養殖判別 …… 脱脂した筋肉サンプルを用いることで、天然養殖判別できる可能性が示された。しかし、内臓の同位体比は筋肉の同位体比と比較して大きく差がみられたことから、筋肉と内臓の混在サンプルを判別に用いるのは困難である。

4-6 平成 28 年度の研究成果

- (1) 統計手法を用いた農産物の産地判別 …… トウモロコシの安定同位体比測定結果を統計解析し、産地判別を試みたところ、2次元プロットと同様に詳細な地域の判別は難しいが、統計解析をすることで国産／外国産の高確率判別の可能性が示された。また、抽出油の炭素安定同位体比が判別関数に与える影響が大きいことが判明した。

⁶ これまで、加工食品は同位体比の変動が起きるため、安定同位体比による判別分析は困難とされていた。

5. 平成 29 年度の研究成果の概要

平成 29 年度の研究成果の概要は以下の通りである。

【研究 A】「GC-IRMS による脂肪酸同位体比の活用」

落花生抽出油による脂肪酸同位体比では、炭素数 16, 18 及び 18:1 のファクターを用いることで、バルク分析では判別が難しかった国内の県ごとの判別及び国内外の判別の可能性が見いだされた。

【研究 B】「コーヒー豆の地域判別の可能性」

コーヒーは、生豆で測定した同位体比データと焙煎豆で測定した同位体比データを併用することは難しく、個々にデータ採取することが必要であることが再認識された。

地域ごとのプロットでは、南アメリカ／中東アフリカ／東南アジアで地域性が確認されたことから、地域判別の可能性が見出せた。

6. 研究成果全体の概要（確認事項・まとめ）

平成 23 年度～平成 28 年度に行った研究によって得られた確認事項は以下の通りである。

(1) エタノール

- 1) C3 植物・C4 植物（サトウキビ・糖蜜・トウモロコシ）・化学合成品の判別は可能である。
- 2) エタノールの製造地域・工場の判別は一部で可能である。
- 3) 日本酒、麦焼酎及びウイスキー・リキュールの産地判別は一部地域で可能である。
- 4) 分析装置 GC/C/IRMS を用いて分離分析することで産地判定の精度は大きく向上する。

(2) 農産物

- 1) 落花生は脱脂サンプルを測定することで判別精度が向上する。
- 2) トウモロコシ種子の安定同位体比測定では皮を使うことが好ましい。
- 3) トウモロコシ種子の酸素×窒素同位体比を用いることで国内外判別できる可能性がある。
- 4) トウモロコシの産地特定には種子・抽出油の両者から得られる同位体比情報が有効である。
- 5) トウモロコシの産地特定に統計解析を採用することで国産／外国産の高確率判別の可能性がある。
- 6) タケノコの窒素同位体比は部位の差が大きいことから、測定部位を限定する必要がある。
- 7) タケノコの水煮加工品は、十分に湯煮してから乾燥すれば安定した値が得られる。
- 8) 米は炊飯加工しても同位体比への影響は殆どない。（窒素・炭素・酸素）
- 9) 米はヨーロッパ産と国産とで識別できる。

(3) 海産物

- 1) 大型魚類については、天然養殖判別は可能である。（養殖期間中の餌の影響）
- 2) 魚類では内臓を除いて同位体比を比較することが好ましい。
- 3) マグロは測定部位による同位体比への影響は殆どない。（ただし、内臓除く）
- 4) イカ・カニは筋肉と内臓とでは同位体比は大きく相違する。

【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。

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

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2テーマについて行った。

7-1 【研究A】GC-IRMSによる脂肪酸同位体比の活用

安定同位体比による原料・原産地の判別において、農産物の炭素同位体比は原料が反映され、酸素及び水素同位体比は原産地の環境が反映され、窒素同位体比は土壌中の窒素源（肥料等）が反映されると言われている。すなわち、これらの軽元素安定同位体比測定結果を組み合わせ、原料・原産地の特徴を数値化することで、農産物の産地判別に利用できる。

しかしながら、繊維質や蛋白質（脂肪分は脱脂作業にて除去）などの成分が共存した状態で測定するバルク分析⁷では、それぞれの値が相互に影響を受け判別評価が難しくなることがある。

そこで、本研究では農産物中の油脂分を抽出し、誘導体化することで脂肪酸成分に限定して同位体比を測定し、脂肪酸同位体比活用の可能性について試行した。

7-1-1 落花生の産地判別

昨年度までの成果として、落花生はバルク分析の測定部位を限定することで軽元素安定同位体比測定結果から、国内外産地判別ができる可能性を示した。たとえば、表2【炭素×酸素】バルクプロット（脱脂サンプル）。

植物の実は、茎や葉が出来、花が咲いたその後に行えることから植物成長の最終段階で形成されるため、同位体比がより鮮明に現れるサンプルであると言える。

前回、落花生は脱脂サンプルを用いることで判別の可能性が見いだされたが、抽出油でのプロットは想定したほどではなく、また脱脂サンプルについては抽出油よりも産地判別の評価は低いものとなった。

本研究では、脱脂した抽出油の脂肪酸同位体比の産地判別の活用を試みた。

7-1-2 測定及び分析結果

落花生から抽出した油（以下抽出油）についてGC-IRMSにて脂肪酸同位体比を測定した。

(1) 測定サンプル

脂肪酸同位体比分析を行った検体は、国内産8検体、外国産7検体の計15検体である。サンプル詳細は表1に示す。

(2) 分析方法

凍結乾燥させ粉碎した落花生サンプルに、クロロホルム-メタノール溶液（以下、ホルチ液という）を加えて遠心分離し、上澄み液と沈殿物に分けた。採取した上澄みからホルチ液を揮散除去して抽出油を得た。

抽出油は、メタノール性水酸化ナトリウム溶液でアルカリ加水分解後、三フッ化ホウ素メタノール溶液にて脂肪酸メチルエステル誘導体化を行い、脂肪酸同位体比測定用サンプルとし、GC-IRMSにて脂肪酸同位体比を測定した。

分析装置及び分析方法は以下の通りである。

表1 落花生サンプル

区分	詳細（産地）	脂肪酸データ数	抽出油データ数	残渣データ数
国内産	千葉	2	12	49
	神奈川	3	17	10
	茨城	3	10	17
海外産	中国	3	29	30
	インドネシア	2	3	3
	南アフリカ	2	10	10
合計		15	81	119

⁷ バルク分析とは、脱脂や粉碎した後のサンプルを分析することを言う。一方、成分分析とは、脂肪酸等の単離した成分を分析することを言う。

① 炭素同位体比 ($\delta^{13}\text{C}$) : GC-IRMS 法

炭素数 16 (飽和) : パルミチン酸メチルエステル

炭素数 18 (飽和) : ステアリン酸メチルエステル

炭素数 18 : 1 (不飽和度 1) : オレイン酸メチルエステル

測定した脂肪酸メチルエステルは、誘導體化に使用したメタノールの同位体比を考慮し、脂肪酸メチルエステルから脂肪酸としての同位体比を算出し、落花生の脂肪酸同位体比とした。

(3) 分析結果

前回までのバルク分析では、国内外の判別はおおよそ可能であった(日本 vs. 南アフリカ vs. 中国) が、一部インドネシア品と日本国内のプロットが重なってしまった。また、日本国内の千葉県、神奈川県及び茨城県についてもプロットが重なるため日本国内の産地判別がほぼ不可能であった。

脂肪酸同位体比による判別結果を表 2 に示した。炭素数 16 及び 18 のプロットでは、インドネシアと中国に重なりがあるものの、国内の千葉県/神奈川県/茨城県に差異が見られた。

また、炭素数 16 及び 18 : 1 のプロットでは、中国とインドネシアに明確な違いが見られ、国内及び国内外の判別の可能性が見られた。

7-1-3 小括

落花生抽出油による脂肪酸同位体比では、炭素数 16, 18 及び 18 : 1 のファクターを用いることで、バルク分析では判別が難しかった国内の県ごとの判別及び国内外の判別の可能性が見いだされた。

脱脂サンプルや抽出油サンプルのようなバルク分析では確認できなかったわずかな違いを脂肪酸のような成分ごとの同位体比測定を行うことで、産地の違いを明確にすることが出来た。

本研究では、測定した検体数が少なかったため、今後の課題は地域ごとの違いを明らかにし、判別の確度を高めていきたい。

表2 落花生プロット

バルク分析（脱脂サンプル）	バルク分析（抽出油サンプル）	脂肪酸分析（抽出油）
<p>◆千葉県 ■神奈川県 ▲茨城県 ◆中国 ●インドネシア ●南アフリカ</p>	<p>◆千葉県 ■神奈川県 ▲茨城県 ◆中国 ●インドネシア ●南アフリカ</p>	<p>◆千葉 ■神奈川 ▲茨城 ◆中国 ●インドネシア ●南アフリカ</p>
<p>【炭素×酸素】バルクプロット（脱脂サンプル）</p>	<p>【炭素×酸素】バルクプロット（抽出油サンプル）</p>	<p>【C16炭素×C18炭素】脂肪酸プロット（抽出油）</p>
<p>◆千葉県 ■神奈川県 ▲茨城県 ◆中国 ●インドネシア</p>	<p>◆千葉県 ■神奈川県 ▲茨城県 ◆中国 ●インドネシア</p>	<p>◆千葉 ■神奈川 ▲茨城 ◆中国 ●インドネシア ●南アフリカ</p>
<p>【炭素×酸素】バルクプロット（脱脂サンプル） 南アフリカを除く</p>	<p>【炭素×酸素】バルクプロット（抽出油サンプル） 南アフリカを除く</p>	<p>【C16炭素×C18:1炭素】脂肪酸プロット（抽出油）</p>
<p>脱脂サンプルでは、南アフリカ産とその他の産地が明確であり、また中国産と国産及びインドネシア産との境界も確認できることから、南アフリカ、中国及びその他の産地間での判別の可能性が示されている。 ただし、国内及びインドネシア産に関してはプロットが重なってしまっていることから、判別は困難である。</p>	<p>脱脂サンプルプロットと同様に抽出油プロットについても南アフリカ産及びその他の産地が明確である。 しかし、国内及び中国、インドネシア産については、全体的にプロットの重なりが大きく、南アフリカ産以外の産地については判別が困難である。</p>	<p>脂肪酸同位体比を測定することで、国内外の差が明確になった。 特に国内の千葉県、神奈川県、茨城県及び中国産についてはプロットの幅が濃縮されたことで差異が明確となった。また、インドネシア産はオレイン酸（C18:1）の同位体比がもっとも高く、産地判別には有効なファクターであることが確認できた。</p>

7-2 【研究B】コーヒー豆の地域判別の可能性

7-2-1 コーヒー豆の地域判別

コーヒー豆はコーヒーの実の種であり，落花生と同様に植物成長の最終段階であり，より同位体比が濃縮されたサンプルである。

本研究では，生豆及び焙煎コーヒー豆の炭素／窒素／酸素安定同位体比を測定し，地域判別の可能性について考察した。

7-2-2 測定サンプル

外国産 47 検体を分析に供した。表 3 に分析対象サンプルを示す。

(1) 分析方法

凍結乾燥させ粉砕したコーヒー豆サンプルに，クロロホルム-メタノール溶液（以下，ホルチ液という）で繰り返し脱脂し，油分を取り除いた。

ホルチ液で脱脂したサンプルを乾燥させて測定サンプルとした。

脱脂した測定サンプルについて炭素，窒素及び酸素の安定同位体比を測定した。

分析装置及び分析方法⁸は以下の通りである。

- ① 炭素同位体比 ($\delta^{13}\text{C}$) : EA-IRMS 法
- ② 窒素同位体比 ($\delta^{15}\text{N}$) : EA-IRMS 法
- ③ 酸素同位体比 ($\delta^{18}\text{O}$) : TC/EA-IRMS 法

表 3 コーヒー豆サンプル

産地	件数	産地	件数
エチオピア	6	タイ	2
ドミニカ	1	エルサルバドル	1
ブラジル	6	ニカラグア	1
タンザニア	3	パプアニューギニア	1
キューバ	2	東ティモール	1
ペルー	2	ケニア	1
コロンビア	2	イエメン	1
パナマ	2	ドミニカ共和国	1
コスタリカ	2	ジャマイカ	1
グアテマラ	5	メキシコ	1
インドネシア	5	—	-
合計			47

測定元素	分析方法		測定項目
炭素／窒素	EA/IRMS 法	元素分析計-同位体比質量分析計	$\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$
酸素	TC/EA-IRMS 法	熱分解元素分析計-同位体比質量分析計	$\delta^{18}\text{O}$

(2) 分析結果

① 生豆と焙煎豆の同位体比変動

焙煎とは，個々に条件は異なるが，熱をかけてコーヒー本来の香り，味，苦みや旨味を引き出すための工程である。

しかし，熱をかけることで軽い同位体質量元素の揮発によって，同位体比は変動してしまうため，生豆で判別の可能性が見いだせても，焙煎豆では判別が出来ない可能性がある。

表 4 に生豆と焙煎の炭素／窒素／酸素同位体比の変動を示した。

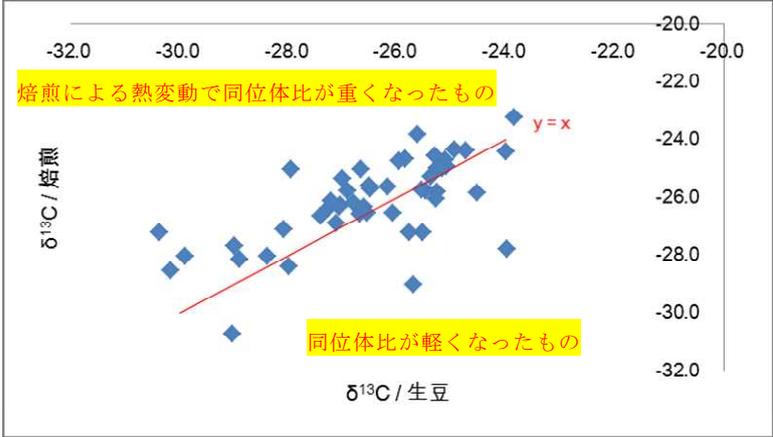
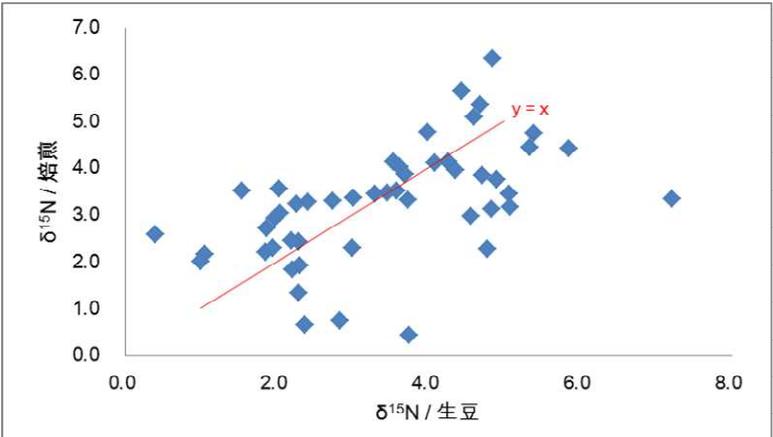
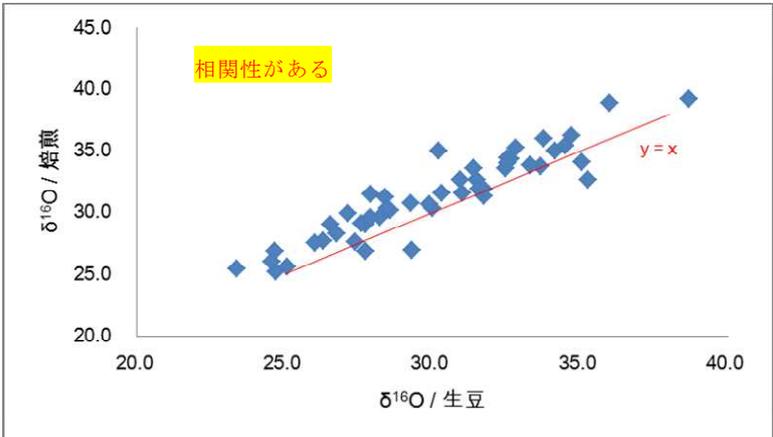
炭素同位体比の焙煎による変動は確認されたが，焙煎することによってほとんどのものが熱によって同位体比が重いものとなった。

また，窒素同位体比については，大きいもので 4%ものズレが生じてしまっていることが確認された。

⁸ 分析条件は巻末資料参照

酸素同位体比プロットは、炭素同位体比と同様に焙煎によって重い同位体比に変動しているが、酸素同位体比は炭素同位体比よりも生豆から焙煎豆への変動が一様であり、直線性がある（相関性がある）。

表4 生豆と焙煎豆の同位体比変動

プロット	同位体比プロット図	コメント
炭素同位体比 プロット 【生豆／焙煎豆】		<p>炭素同位体比の焙煎による熱変動が確認され、ほとんどのものは熱によって同位体比が重くなっている。焙煎によって軽い同位体が揮発したものと推測できる。（赤線より上にあるものが同位体比が重くなったもの）</p>
窒素同位体比 プロット 【生豆／焙煎豆】		<p>窒素同位体比は、熱変動によって大きく変動し、ばらつきが大きい。</p>
酸素同位体比 プロット 【生豆／焙煎豆】		<p>酸素同位体比プロットは、炭素同位体比の変動と同様に焙煎によって同位体比が重くなっている。酸素同位体比は炭素同位体比よりも生豆から焙煎豆への変動が一様であり、直線性がある。</p>

② 地域ごとの判別

生豆及び焙煎豆の熱による同位体比変動を受けて、炭素 ($\delta^{13}\text{C}$) 及び酸素 ($\delta^{18}\text{O}$) 同位体比について、地域判別プロットを行った。

(表 5)

生豆及び焙煎豆のプロットをそれぞれ、南アメリカ／中東アフリカ／東南アジアにプロットしたところ、まったく同様のプロットにならなかったが、生豆も焙煎豆も地域差を示すプロットが得られた。

すなわち、コーヒー豆に対しても地域判別の可能性が見出された。

7-2-3 小括

(1) 炭素及び酸素同位体比について

焙煎によって同位体比が重くなる傾向が確認された。

(2) 窒素同位体比について

焙煎による変動が大きく、さらにプロット点の広がりが見られた。このことは、生豆で測定した同位体比データと焙煎豆で測定した同位体比データとは別扱いしなくてはならないことを示しており、個々にデータ採取することが必要であることが再認識された。

(3) 地域判別の可能性

地域ごとのプロットでは、南アメリカ／中東アフリカ／東南アジアで地域性が確認されたことから、地域判別の可能性が見出せた。

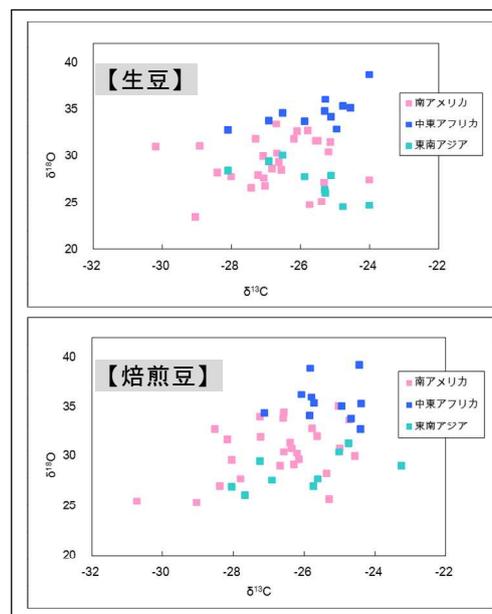


図 1 地域判別プロット

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。

【研究A】GC-IRMSによる脂肪酸同位体比の活用

落花生抽出油による脂肪酸同位体比では、炭素数 16, 18 及び 18:1 のファクターを用いることで、バルク分析では判別が難しかった国内の県ごとの判別及び国内外の判別の可能性が見いだされた。

今後は脂肪酸同位体比の測定検体数を増やし、地域性を確認することで判別の手法を確立していく。

【研究B】コーヒー豆の地域判別の可能性

コーヒーは、生豆で測定した同位体比データと焙煎豆で測定した同位体比データを併用することは難しく、個別にデータ採取することが必要である。

地域ごとのプロットでは、南アメリカ／中東アフリカ／東南アジアで地域性が確認され、地域判別の可能性が見出せた。

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) 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

卷末資料

表 1 2 安定同位体比の測定条件

表 1 2 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)