

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 7 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。近年輸入量が増加しているハチミツは産地・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引き続き高騰している。その中で意図的に産地偽装や水増しのためのシロップ混入を疑う事例が少なからず発生しており，国際取引においては分析による信頼性の確保が必要である。本研究で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，産地判別に安定同位体比分析やその他のアプローチが適用できるかをテーマとしデータの収集を行っている。

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製品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。加えて蜜源となる植物においても山間部の開発や害虫被害，温暖化による植生の変化が集蜜の妨げとなっていることが報告されている。そのため，日本のハチミツ輸入量は 2022 年から減少傾向にあるが，栄養成分への注目や高付加価値製品に使用されるなど，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，純粋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。また、2024年には新たな検査法として「外来アミラーゼ検査法」が開発され、それぞれの検査法の欠点を補うスクリーニング方法が日々開発されている。

(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、外国産ウイスキーについて

生産国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 56 種、カナダ産 21 種、国産 10 種、ミャンマー産 7 種、ハンガリー産 4 種、アルゼンチン産 3 種、ウクライナ産 2 種の計 103 サンプルについて測定を行った。

4-2. 味覚センサーを用いたハチミツの測定

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. 味覚センサーを用いた外国産ウイスキーの測定

これまでの研究において、国産清酒・焼酎類で「熟成感」と「濃醇感」について差が出やすい傾向が判明したため、同様に外国産ウイスキーについて測定を行った。試料は外国産 12 種類、国産 1 種類を対象とし(表 1)、スコットランド産ウイスキーはすべて 12 年熟成であった。基準液はエタノール(特級)を 10%に調整したものを使用し、全試料の平均値との比較を行った。

表 1. ウイスキーサンプル一覧

No.	品名	原産国	原料
1	Super Nikka	日本	モルト・グレーン
2	Grant's	スコットランド	モルト・グレーン
3	Maker's Mark	アメリカ	モルト・グレーン
4	JAMESON	アイルランド	モルト・グレーン
5	Jack Daniel's	アメリカ	モルト・グレーン
6	グレンフィディック 12 年熟成	スコットランド	モルト
7	グレンリベット 12 年熟成	スコットランド	モルト
8	グレンファークラス 12 年熟成	スコットランド	モルト
9	トマーティン 12 年熟成	スコットランド	モルト
10	カリラ 12 年熟成	スコットランド	モルト
11	バルヴェニー 12 年ダブルウッド	スコットランド	モルト
12	オーヘントツシャン 12 年熟成	スコットランド	モルト
13	グレンキンチー 12 年熟成	スコットランド	モルト

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した。

5-2. 味覚センサーによる測定

ハチミツ及びウイスキーについて、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，ウイスキーについてはアルコール度数 40 度以上と高いため，センサー測定可能範囲に希釈して測定を行った。ウイスキーの結果については昨年の清酒と同様，「酸味」＝「熟成感」，「塩味」＝「濃醇感」として表した。

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 に示す。

今年度測定した試料では， $\delta^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ は $-28.65\sim-23.68\text{‰}$ の範囲に， $\delta^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ は $0.31\sim7.00\text{‰}$ 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， $-27.45\sim-23.68\text{‰}$ 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 $0.31\sim3.56\text{‰}$ 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。 $\delta^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ の範囲が例年よりも幅広いものの，これまでと同様の傾向であった。

カナダ産では $\delta^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ で $-27.56\sim-24.55\text{‰}$ ， $\delta^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ で $1.61\sim5.36\text{‰}$ の範囲に分布し，これまでと比較すると $\delta^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ で低めの傾向が認められた。

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，過去 3 年間と同様の傾向が認められた。

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，昨年測定された -25.00‰ 付近の試料は確認されなかった。 $\delta^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ については 2 点を除き 4.0‰ 以上と高めである傾向は同様であった。

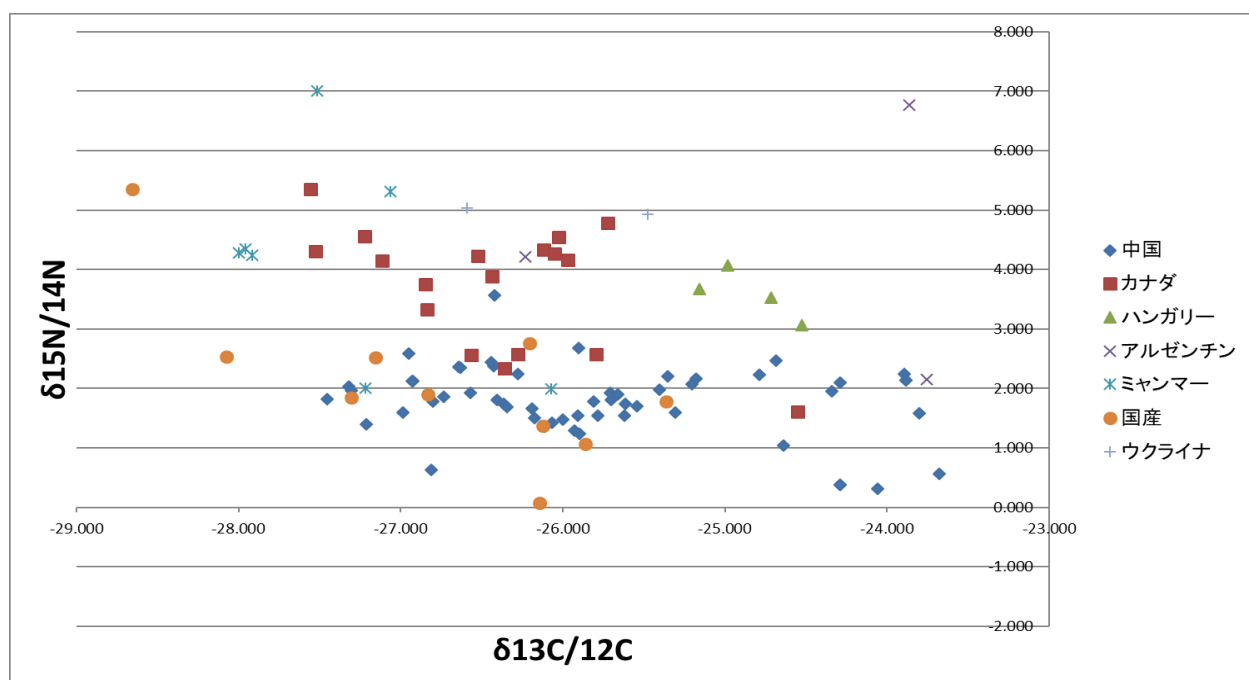


Fig 1. 生産国別の炭素・窒素安定同位体比

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、特にベトナム産とグアテマラ産の検体で酸味について特徴が見られた。(Fig.2)。

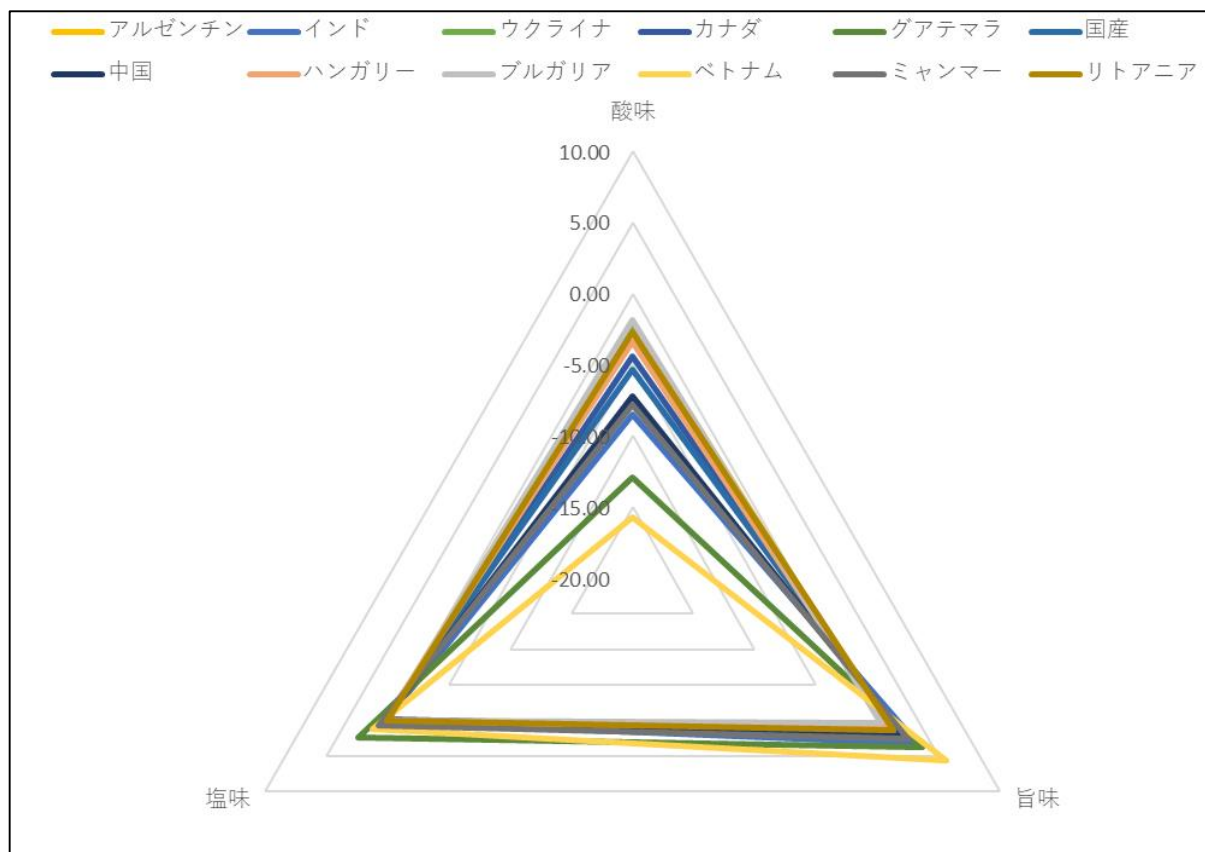


Fig.2 はちみつの生産国別の比較（酸味×塩味×旨味）

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，中国産では酸味でサンプル間の差が大きく，カナダ産及び国産は酸味，塩味，旨味において安定した味覚値であった。(Fig.3-1~4)

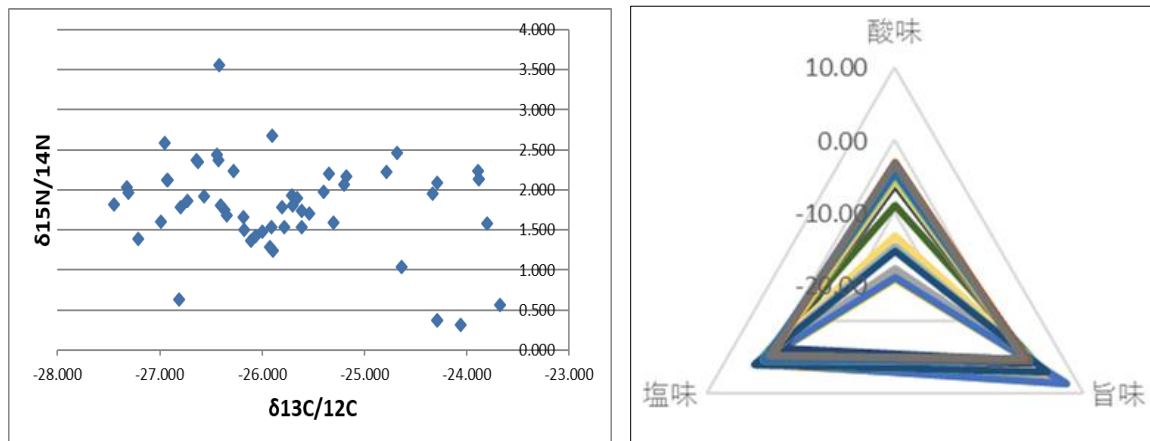


Fig.3-1 同位体比-味覚センサー（中国）

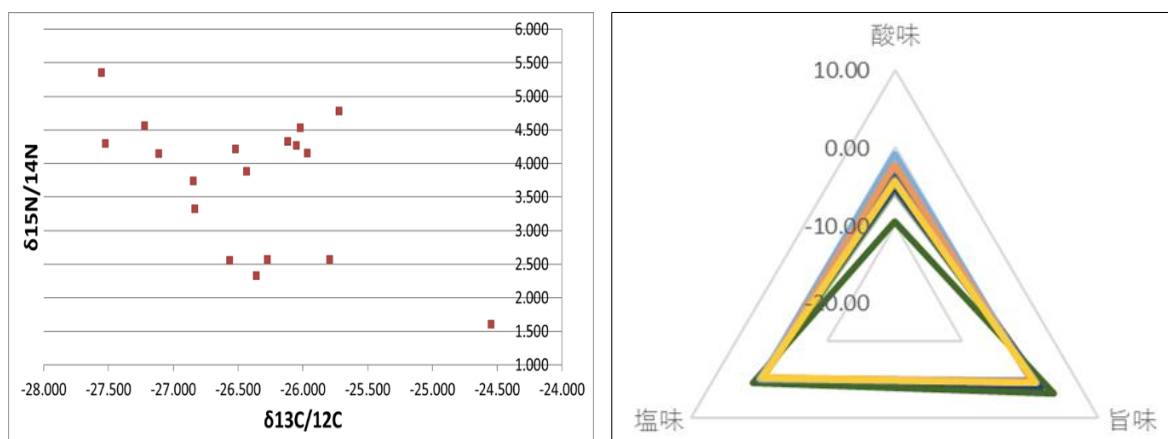


Fig.3-2 同位体比-味覚センサー（カナダ）

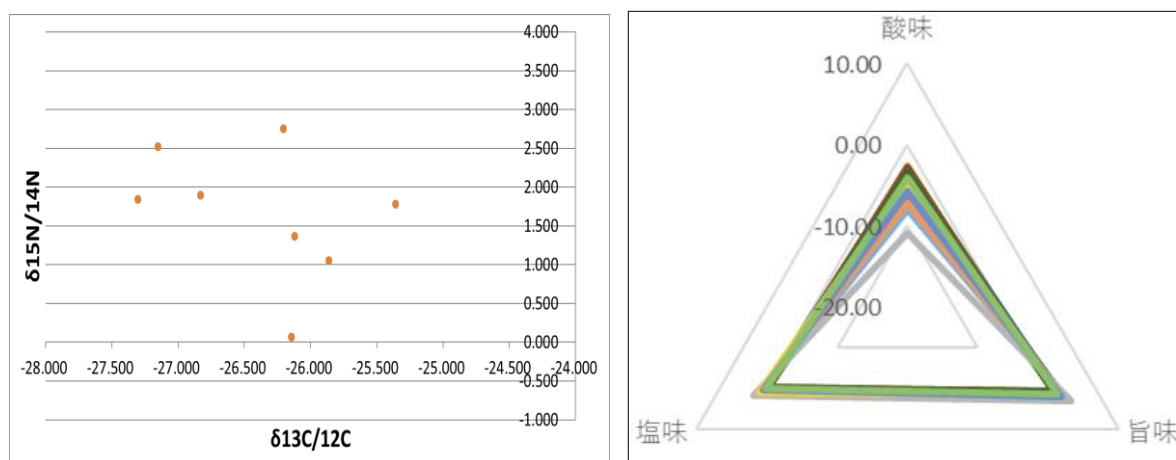


Fig.3-3 同位体比-味覚センサー（国産）

6-3. 味覚センサーによるウイスキーの測定

味覚センサーを用いて各生産国のウイスキーサンプルを測定した結果、熟成感、濃醇感のプロット範囲には偏りが見られた (Fig.4)。熟成期間の長いスコットランド産 8 検体についてはすべて熟成感が高く濃醇感が低めの結果となり、製造の浅いものと比較すると明確な変化が出る傾向にあった。

表 2. ウイスキー測定結果

No.	品名	原産国	原料	熟成感	濃醇感
1	Super Nikka	日本	モルト・グレーン	-3.48	1.00
2	Grant's	スコットランド	モルト・グレーン	-3.10	0.93
3	Maker's Mark	アメリカ	モルト・グレーン	0.21	0.96
4	JAMESON	アイルランド	モルト・グレーン	-3.92	0.89
5	Jack Daniel's	アメリカ	モルト・グレーン	-0.47	1.06
6	グレンフィディック 12年	スコットランド	モルト	1.22	-0.56
7	グレンリベット 12年	スコットランド	モルト	0.98	0.37
8	グレンファークラス 12年	スコットランド	モルト	1.74	-0.77
9	トマーティン 12年	スコットランド	モルト	1.72	-0.41
10	カリラ 12年	スコットランド	モルト	0.01	-1.28
11	バルヴェニー 12年ダブルウッド	スコットランド	モルト	2.60	-1.27
12	オーヘントツシャン 12年	スコットランド	モルト	1.78	-1.55
13	グレンキンチー 12年	スコットランド	モルト	0.69	0.62

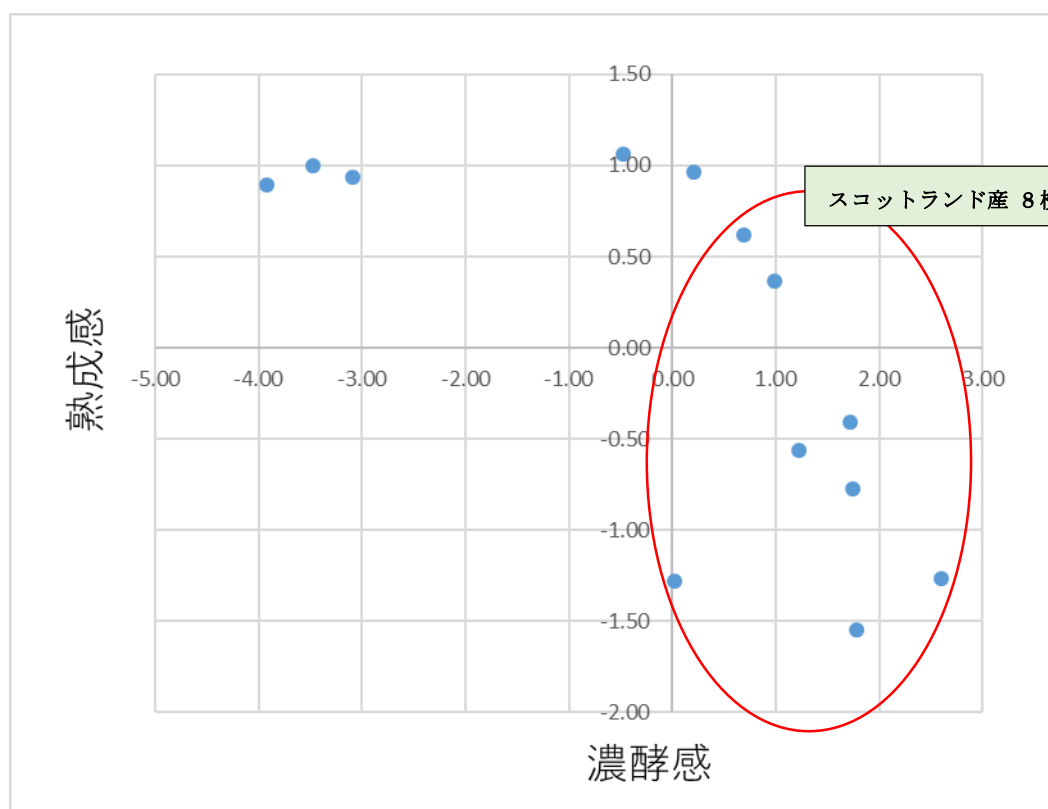


Fig.4 ウイスキーの測定結果

7. 総括

7-1. ハチミツの安定同位体比及び味覚センサー測定

ハチミツの生産国別安定同位体比を比較したところ (Fig 5), 中国産では例年通り $\delta^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ 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 3 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 $\delta^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ の値が重要となることが裏付けられた。しかしながら, 国産やカナダ産でも $\delta^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ 値が 2.00 を下回る試料があることから, 絶対ではないことに注意が必要である。

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 3 年のデータと一致していた。一方で, ミャンマー産は $\delta^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ が低く, $\delta^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ が高い傾向があり特徴的とも取れるが, プロット範囲が広く評価が難しい。

その他の生産国はこれまでに特徴的な偏りは確認できず, 安定同位体比のみでの産地判定は困難であり, 同時に評価できる指標について検討の必要があると考えられる。

安定同位体比によるハチミツの産地判別については複数の指標を用いることが検討されている。ハチミツにはミツバチの唾液酵素が混合されることが知られており, 花の種類だけでなくミツバチの生体要素も大きいと推定される。安定同位体比の変動にはミツバチの地域的な遺伝特性による可能性も考えられるため, 本研究ではタンパク質の構成元素である炭素と窒素の組み合わせに着目している。そのため, ハチミツ本体の $\delta^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ 比ではなく抽出タンパクの $\delta^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ 及び $\delta^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ についての検討を引き続き行っていく。

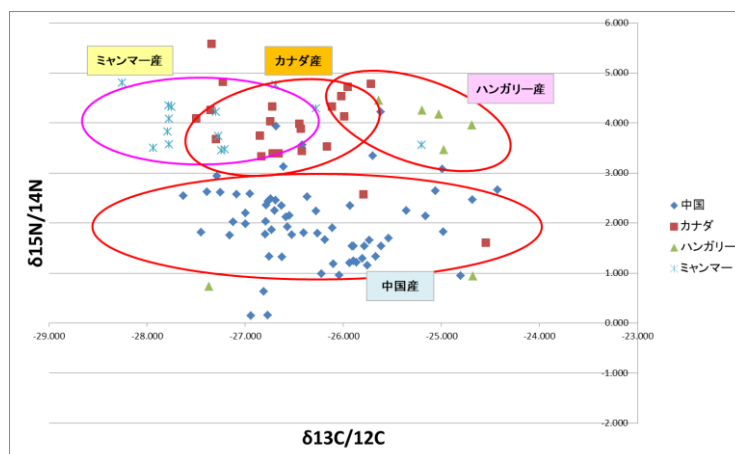


Fig.5-1 測定数量上位国サンプルの安定同位体比 (2023 年度測定)

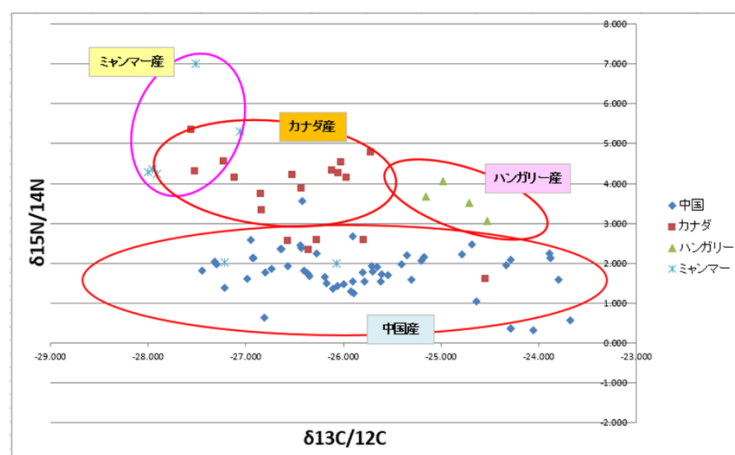


Fig.5-2 測定数量上位国サンプルの安定同位体比 (2024 年度測定)

一方、味覚センサーを用いた測定結果では地域性に明確な差は見られなかったため、装置単体での産地判別は困難であると考えられた。

ハチミツ産地判別には炭素-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。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い、原料花の種類に依存しない生産国判定を目指していく。

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。次年度も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。

7-2. ウイスキーの味覚センサー測定

当分析センターで2015年に実施した安定同位体比測定に、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) に注目したものがある。酒類については①炭素×酸素プロット、②水素×酸素プロット及び③水素×炭素プロットに着目し、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出された。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。

本研究では海外生産のウイスキーを用いて、地域及び熟成度による偏りが測定値として表現されるかについて検討を行った。その結果、熟成期間の長い試料については酸味をベースとした熟成感において値が高い結果となった。また、原料によっては塩味をベースとした濃醇感に差が出るのがわかり、こちらも特徴的な結果となった。原料と熟成具合はウイスキーの質に大きく影響することから、味覚による生産地域の判定、熟成の深さの判定などに応用することが期待できる。

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。従来から安定同位体比に加え、微量金属元素やDNA判別等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研究がなされていたが、本研究では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る。単体では純粋な産地判別としての役割は困難であるが、製品の持つ特性差を評価に加えることで産地判別に応用できる可能性がある。

以上