

令和元年6月18日現在

機関番号：82111

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K16302

研究課題名(和文) 安定同位体比および微量元素組成によるアジアのコメのトレーサビリティシステムの構築

研究課題名(英文) Tracing geographical origin of Asian rice by using stable isotope and trace element analysis

研究代表者

鈴木 彌生子 (SUZUKI, Yaeko)

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・食品研究部門・主任研究員

研究者番号：00515059

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：アジア太平洋地域における食品トレーサビリティシステムの構築を目的とした国際連合食糧農業機関(FAO)と国際原子力機関(IAEA)の技術協力プロジェクト(RAS5062およびRAS5081)の協力を得て、素性の明確な米試料を各国から収集し、安定同位体比および無機元素組成を明らかにすることで産地判別の可能性を検証した。軽元素(炭素・窒素・酸素および硫黄)・重元素(ストロンチウム)の安定同位体比および18元素の濃度を組み合わせることで、アジア各国の米の産地判別の可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

米はアジアの食文化において重要な農作物の一つであり、各国に守りたいブランド米が存在するため、科学的根拠に基づくアジアの米のトレーサビリティシステムの開発が大きな課題となっている。本研究では、アジア太平洋地域プロジェクトにおいて収集した米について、生育環境を反映する安定同位体比および無機元素組成を分析した結果、アジア各国の米の産地判別の可能性が示唆された。本研究のデータは、プロジェクトに参加しているアジア太平洋地域の国々と共有されており、今後アジア地域の米の信頼性確保への貢献が期待される。

研究成果の概要(英文)：To establish discriminating model of Asian rice samples, we collected 358 authentic rice samples from 13 countries by FAO/IAEA Technical Co-operation Projects (RAS 5062 and RAS5081). We determined their stable isotopic compositions (carbon, nitrogen sulfur, oxygen and strontium) and 18 element compositions (B, Mg, Al, K, Ca, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, As, Rb, Sr, Mo, Cd, Ba and Pb). There were differences in carbon, oxygen and sulfur isotope ratios among Asian countries. There is overlap in the distribution of carbon and oxygen isotope ratios between rice from China and Japan. Strontium isotope ratios of Japanese rice are relatively lower than those of Chinese rice. Moreover, by combining the stable isotope ratios and elements, the classifications of the geographical origin of Asian rice samples are improved. These results suggested that stable isotope and trace element analyses are useful tool to discriminate the geographical origin of Asian rice samples.

研究分野：食品分析

キーワード：米 トレーサビリティ 安定同位体比 微量元素組成

1. 研究開始当初の背景

米はアジアの食文化において重要な農作物の一つである。世界全体の米生産に占めるアジア諸国の寄与は非常に大きく、2009年には世界の生産量の約9割に達しており、アジアにおいては輸出入が盛んに行われている。各国に守りたいブランド米（例えば、バスマティライスなど）が存在するため、科学的根拠に基づくアジアの米のトレーサビリティシステムの開発が大きな課題となっている。一方で、アジア諸国の技術力の問題から、技術保有国の支援が求められている。国際原子力機関(IAEA)は医療・工業・環境・農業などの分野における原子力技術の平和利用に積極的に協力しており、その一つとして、食品の安全性や信頼性に関する研究支援を行っている。IAEAのアジア太平洋地域における農業分野のプロジェクトの中に、食品の信頼性に関するプロジェクトとして、RAS5062とRAS5081がある。アジア太平洋地域における食品の安全性および信頼性に関する分析技術の開発とデータベースの構築を目的としたプロジェクトで、米・ハチミツ・乳製品・お茶を中心に、食品の安全性や信頼性に関する問題に対し、原子力技術（安定同位体比分析、微量元素分析など）を用いた技術開発を行っている。本研究では、本プロジェクトにて各国より収集した米の安定同位体比および微量元素組成を分析し、アジア地域の米のトレーサビリティシステムの構築を目指す。

2. 研究の目的

産地判別に関する分析技術として、品種を判別するDNA分析や生育環境の違いを読み取る安定同位体比分析および無機元素分析が挙げられる。米の場合、品種はDNA分析によって判別可能である。しかし、DNA分析では、同品種の産地の違いを判別できない。産地については、化学組成と生育環境の関係をういた手法として、微量元素組成や安定同位体比を用いた分析手法が報告されている。米の微量元素組成を比較することで、西日本と東日本において傾向が異なることが報告されている。また、日本産米のストロンチウム安定同位体比は外国産に比べて低い傾向があり、オーストラリア・アメリカ・中国およびタイ産との判別の可能性が示されている。さらに、炭素・窒素・酸素・水素といった軽元素の安定同位体比分析についても米の産地判別技術の開発が進められている。本研究では、アジア太平洋地域の米をターゲットとし、アジア太平洋地域から収集した米試料について、軽元素の安定同位体比および微量元素組成を測定し、アジアにおける米の産地判別の可能性を検証した。

3. 研究の方法

IAEAのRAS5062およびRAS5081プロジェクトの参加者から素性の明確な米を収集した。2016年度から2018年度までにアジア太平洋地域13か国（アメリカ、オーストラリア、バングラディッシュ、中国、インド、日本、ミャンマー、マレーシア、パキスタン、フィリピン、タイ、ベトナム、スリランカ）から収集した358試料について安定同位体比の結果を解析した。

微量元素分析は、玄米試料を乾燥後、マイクロウェーブにより湿式分解し、誘導結合プラズマ質量分析(ICP-MS)を用いて18元素(B, Mg, Al, K, Ca, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, As, Rb, Sr, Mo, Cd, Ba and Pb)を分析した。湿式分解した試料の一部は、Sr安定同位体比($^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$)の測定のためにSrレジンを用いて精製し、高分解能型誘導結合プラズマ質量分析装置(HR-ICP-MS)を用いて、Sr安定同位体比を分析した。

軽元素の安定同位体比については、粉碎試料を錫箔に秤量後、元素分析計を接続した同位体比質量分析計を用いて炭素・窒素・酸素および硫黄同位体比を分析した。安定同位体比は、標準試料からの千分偏差で表した。これらは、 $\delta X = (R_{\text{試料}}/R_{\text{標準}} - 1) \times 1000$ によって、 δ 値として表記した。ここで、Xは炭素、窒素、酸素、硫黄に対して、それぞれ、 ^{13}C 、 ^{15}N 、 ^{18}O 、 ^{34}S を表し、Rはそれぞれの元素の同位体比であり、それぞれ $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ 、 $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ 、 $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ 、 $^{34}\text{S}/^{32}\text{S}$ となる。

データの統計処理については、IBM SPSS Statisticsを用いて解析を行った。正準判別分析のステップワイズ法を用いて分析を行い、判別に寄与する安定同位体比および元素を選択した。

4. 研究成果

(1)安定同位体比について

アメリカ(n=11)、オーストラリア(n=5)、バングラディッシュ(n=21)、中国(n=24)、インド(n=3)、日本(n=143)、ミャンマー(n=33)、マレーシア(n=20)、パキスタン(n=3)、フィリピン(n=31)、タイ(n=15)、ベトナム(n=4)、スリランカ(n=45)から収集した358試料について、炭素・窒素・酸素および硫黄同位体比を分析した(図1)。バングラディッシュ、マレーシアおよびフィリピンの米試料は、日本・パキスタン・タイに比べて炭素同位体比が低かった(図1b)。オーストラリアの米試料は、硫黄および酸素同位体比が他の国々よりも高い特徴が見られた(図1c, d)。

米の炭素同位体比は水利用環境との相関が報告されている。水分環境が大きく異なる水田と畑地で栽培された米の炭素同位体比は、畑地栽培米が水田栽培米よりも1%前後高い値を示した。乾燥条件にある植物ほど、炭素同位体比が高くなるとされており、土壌の水分条件など、植物の水利用環境の違いが、米の炭素同位体比の違いに反映されると考えられる。米の酸素同位体比は、生育水の違いを主に反映し、緯度に対して負の相関が得られた。雨水や地下水等における水の酸素同位体比は、緯度効果・高度効果・内陸効果といった地理的な要因で変化する。よって、米の酸素同位体比は、栽培地域における生育水の違いを主に反映するため、地域間差が見られたと考えられる。

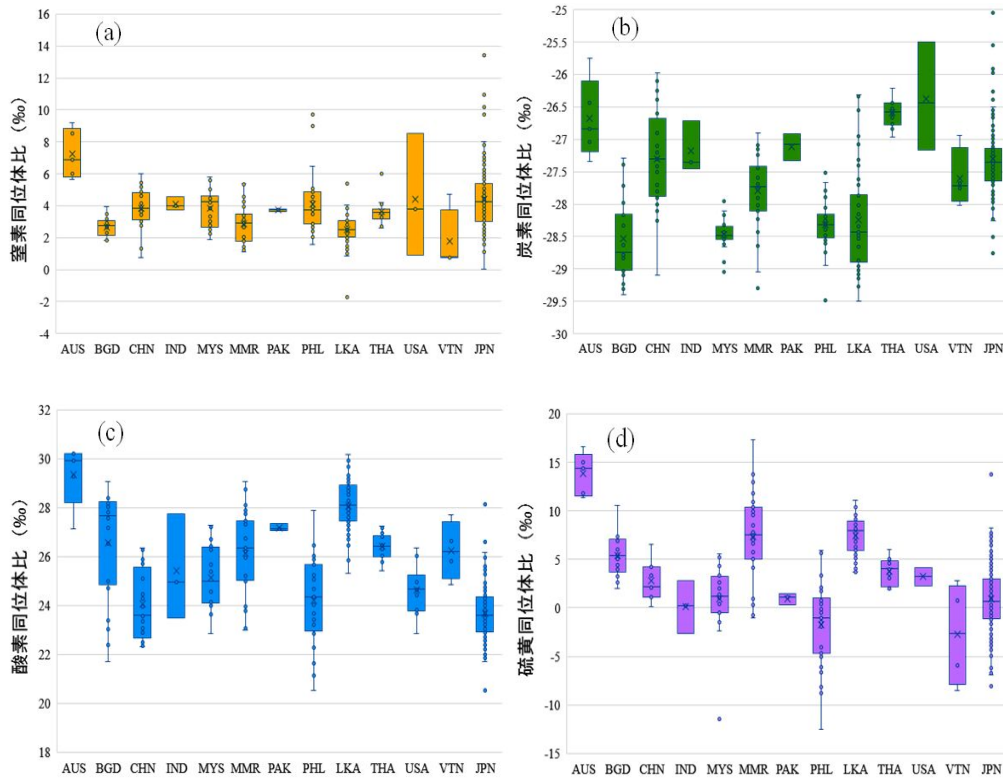


図1 アジア太平洋地域の米の安定同位体比
 (a)窒素同位体比、(b)炭素同位体比、(c)酸素同位体比、(d)硫黄同位体比

日本産の精米については、他の国々に比べて、酸素同位体比値が低く、炭素同位体比が高い傾向が見られた。沖縄県産など一部の試料においては、中国・タイおよびフィリピンの試料と分布が重なる傾向も見られた。とくに、中国産米は、炭素・酸素同位体比ともに日本産と非常に近い特徴を示し、日本産米と中国産米の分布が大きく重なった。中国は広大であり、地域(とくに中国北部)によっては、緯度などの地理的な要因が似ていることから、軽元素安定同位体比の分布が重なる可能性が示唆された。そこで、中国産米については、ストロンチウム同位体比を測定し、日本産米の文献値と比較することで、中国産米と日本産米の産地判別の可能性を検証した。中国産米のストロンチウム同位体比は、0.711(n=17)であるのに対して、文献値の日本産米は0.708(n=34)であり、中国産米のストロンチウム同位体比が高い結果となった。よって、ストロンチウム同位体比は日本産米と中国産米の判別に大きく寄与する可能性が示唆された。

日本産米(北海道(n=7)、東北(n=23)、関東(n=17)、中部(n=26)、中国(n=12)、四国(n=12)、九州(n=19)および沖縄(n=14))の酸素同位体比について、産地間差を比較した(図2)。沖縄県石垣島産米が+26.6‰と最も高く、北海道産上川郡産米が+19.3‰で最も低い値を示した。地域ごとに日本海側・太平洋側・瀬戸内海側および内陸に区分けして比較を行った結果、関東や近畿地方では、太平洋側の地域の米の酸素同位体比が高い特徴が見られた。

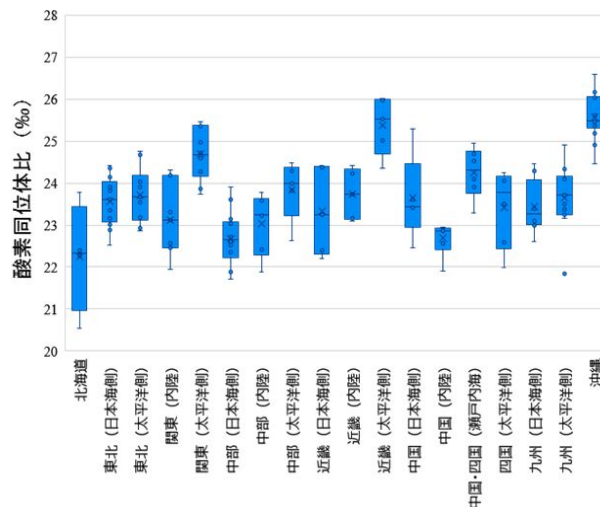


図2 日本産米(北海道、東北、関東、中部、中国四国、九州および沖縄)の酸素同位体比

米の酸素同位体比は、生育水の酸素同位体比を主に反映すると考えられるため、日本全域における降水の酸素同位体比の文献値と米の酸素同位体比の比較を行った。各地点の降水の酸素同位体比の降水量による年加重平均値は、北ほど低く、南下するにつれて値が高くなる緯度効果が報告されている。また、降水の安定同位体比の特徴が日本海側と太平洋側で異なる特徴を示しており、米においても同様の傾向がみられたことから、降水の影響を受けていることが示唆された。

(2) 微量元素組成について

バングラディッシュ(n=20)、中国(n=6)、マレーシア(n=10)、パキスタン(n=3)、日本(n=15)、フィリピン(n=31)およびタイ(n=10) から収集した 95 試料について、ICP-MS を用いて 18 元素 (B, Mg, Al, K, Ca, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, As, Rb, Sr, Mo, Cd, Ba and Pb) の濃度を測定した。18 元素について 7 か国間での有意差検定を行った結果、9 元素 (Mg, Al, K, Fe, Co, Zn, Mo, Ba and Pb) について有意差が認められた。9 元素を用いて、判別分析を行った結果、マレーシア、パキスタンおよびフィリピンは、各国で特徴的な分布を示すことが分かった。

(3) 安定同位体比および微量元素組成を用いた判別分析について

バングラディッシュ(n=20)、中国(n=6)、マレーシア(n=10)、パキスタン(n=3)、日本(n=15)、フィリピン(n=31)およびタイ(n=10) から収集した 95 試料について、炭素・窒素・酸素および硫黄の安定同位体比および 18 元素 B, Mg, Al, K, Ca, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, As, Rb, Sr, Mo, Cd, Ba and Pb) を用いて判別分析を行った。バングラディッシュ、マレーシア、パキスタンおよびフィリピンが特徴的な分布を示すことが分かった (図 3)。

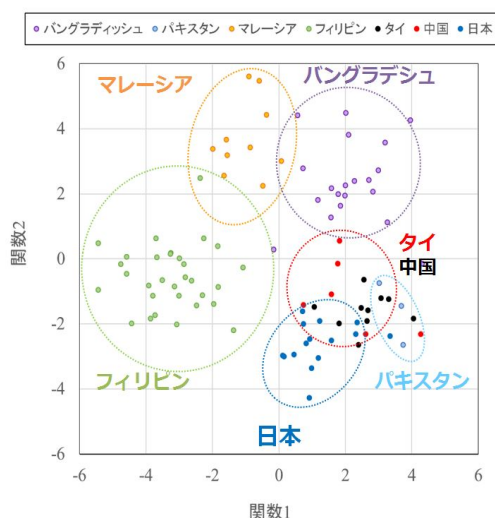


図 3 アジア太平洋地域の米の炭素・窒素・酸素および硫黄の安定同位体比および 9 元素 (Mg, Al, K, Fe, Co, Zn, Mo, Ba and Pb) を用いて判別分析

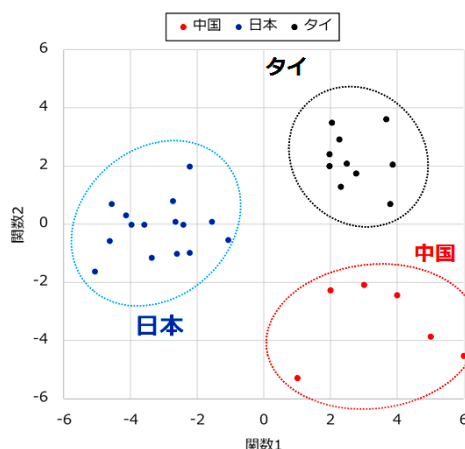


図 4 日本、中国及びタイ産米の酸素同位体比および 5 元素 (B, Mg, Ca, Mn, Mo) を用いた判別分析

日本、中国およびタイについては、他国に比べて分布が近く、似た特徴を示した。そこで、日本、中国及びタイについて、酸素同位体比および 5 元素 (B, Mg, Ca, Mn, Mo) の濃度を用いて 3 か国間で判別分析を行った。軽元素安定同位体比と無機元素組成の結果を組み合わせることで、3 か国ともに特徴的な分布を示すことが分かった (図 4)。以上より、生育環境の違いを反映する安定同位体比および微量元素組成を組み合わせることによって、アジア各国の米試料の産地判別の精度が向上することが示唆された。

(4) 米タンパク質群の分布と品種および栽培地域に関する基礎検討

安定同位体比や無機元素組成の弱点として、複数の原料や産地が含まれた食品は判別が困難であることが挙げられる。従来法で複数の原料や複数産地が含まれた食品をそのまま分析すると、得られた結果は、すべての原料の総合値になってしまう。そこで、タンパク質に注目し、米由来タンパク質画分を抽出し、品種や栽培地域によって異なるタンパク質を同定することにより、複数産地の混在する試料や加工食品における特定の原料の産地判別への応用の可能性を検証した。基礎検討として、品種や産地の異なる精米から抽出した米タンパク質群の分布を比較し、品種間や産地間の違いを解析可能かどうか検討した。米タンパク質群の比較を行うために、蛍光標識二次元ディファレンスゲル電気泳動 (2D-DIGE) 法を用いた。新潟県産、アメリカ産、オーストラリア産および中国産について、コシヒカリまたは短粒米 (精米) を収集し、マルチピーズショッカーを用いて粉碎した。粉碎した精米試料から全タンパク質を抽出し、定量した。新潟県産コシヒカリを基準として、外国産米との差異を検出するため、新潟県産コシ

ヒカリは Cy3 ,アメリカ産 ,オーストラリア産および中国産のコシヒカリあるいは短粒米は Cy5 を用いて標識した。標識した新潟産コシヒカリおよび外国産米試料を混合し、2 次元電気泳動装置を用いて 2D-DIGE を行い、米タンパク質群の分布の比較解析を行った。

新潟県産コシヒカリのタンパク質群に対して、アメリカ産、オーストラリア産および中国産米のタンパク質群を比較した結果、特に、分子量 50~100kDa、等電点 4~5 付近および分子量 30kDa 付近、等電点 5.5~6.5 付近のタンパク質群に量的差異が見られることが分かった(図 5)。よって、品種や栽培地域の異なる精米中の米タンパク質群の分布の違いを検出することができた。経年変化および栽培条件の違いによる影響も懸念されることから、今後更なるサンプルについて検証を行う必要がある。

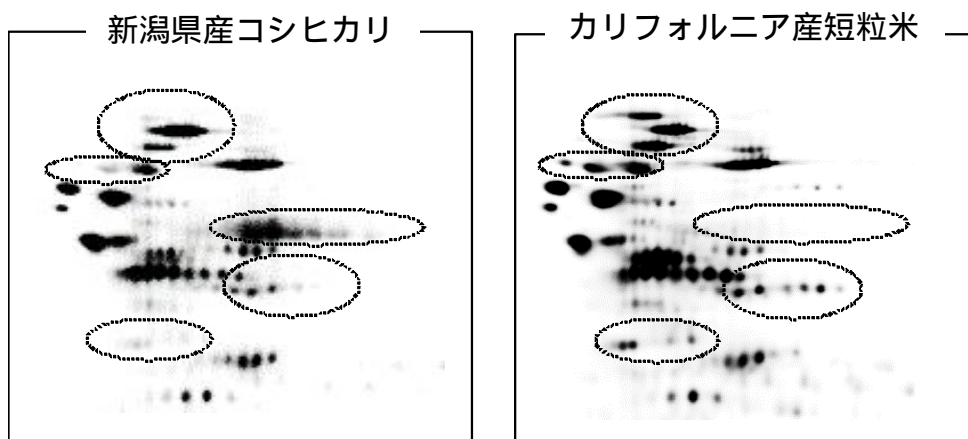


図 5 新潟県産コシヒカリおよびカリフォルニア産短粒米の 2 次元電気泳動

以上より、アジア太平洋地域における安定同位体比および 18 元素 (B, Mg, Al, K, Ca, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, As, Rb, Sr, Mo, Cd, Ba and Pb) の組成を比較した結果、各国で特徴的な分布を示すことが分かった。日本産と中国産の米においては、軽元素安定同位体比のみでは判別が困難であったが、元素組成やストロンチウム同位体比を組み合わせることによって、判別の可能性が示唆された。これらの結果は、発展途上国を中心に技術面での困難さから実現しなかった安定同位体比および微量元素組成のアジア地域におけるデータベースの構築に貢献する結果と言える。これらのデータは、プロジェクトに参加したアジア太平洋地域に共有されており、アジア地域の発展途上国における技術支援にも貢献している。また、サンプル数は少ないが、米タンパク質群の分布が品種間差や産地間差を反映する可能性が示された。いずれの技術においても、経年変化などを含め、今後も継続的に分析していく必要はあるが、アジア地域における米の産地判別の可能性が示唆された。今後、各国で抱える米の信頼性問題へのアプローチとしての利用が期待される。

< 引用文献 >

- 大坪 研一, 米の品質評価, 品種判別および加工利用に関する 研究・応用糖質科学, 4, 2014, 93-102
- 安井 明美, 進藤 久美子, 玄米中の無機元素組成による産地判別, 分析化学, 49, 2000, 405-410
- Akira Kawasaki, Hisao Oda, Takafumi Hirata, Determination of strontium isotope ratio of brown rice for estimating its provenance, Soil Science and Plant Nutrition, 48, 2002, 635-640
- 有山 薫, 元素及び重元素同位体組成による農産物の産地判別技術, 分析化学, 63, 2014, 205-220
- 一柳 錦平, 田上 雅浩, 日本全域における降水の安定同位体比—2013 年集中観測の結果より—, 日本水文科学会誌, 46, 2016, 123-138

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 4 件)

- 鈴木 彌生子, 軽元素安定同位体比分析による米の産地判別技術, 環境と測定技術, 査読無, 46 巻, 2019, 23 - 28
- 鈴木 彌生子, 食品の産地判別技術, Foods & Food Ingredients Journal of Japan, 査読無, 224 巻, 2019, 13 - 20
- 鈴木 彌生子, 無機元素分析および安定同位体比分析による食品の産地判別, ぶんせき, 査読無, 8 巻, 2018, 315 - 316
- 鈴木 彌生子, 食の“ふるさと”を科学する— 多元素安定同位体比による産地判別 —, 現代化学, 査読無, 552 巻, 2017, 34 - 35

〔学会発表〕(計6件)

鈴木 彌生子, 中下 留美子, 細沼 亜里沙, 知久 和寛, 吉田 充, 安定同位体比および元素濃度によるアジアのコメの産地判別, 日本分析化学 第 67 年会, 2018 年 09 月 13 日, 東北大学(宮城)

鈴木 彌生子, 安定同位体比および微量元素分析による食品の産地判別技術の開発, 日本分析化学 第 67 年会, 2018 年 09 月 15 日, 東北大学(宮城)

鈴木 彌生子, 食品の産地判別技術の現状と課題, 日本分析化学会 表示・起源分析技術研究懇談会 第 20 回講演会(招待講演), 2019 年 01 月 25 日, 東京電機大学(東京)

鈴木 彌生子, 自動 2 次元電気泳動装置を用いた米タンパク質群の分布と品種および栽培地域の関係についての基礎検討, 日本分析化学会 表示・起源分析技術研究懇談会 第 20 回講演会, 2019 年 01 月 25 日, 東京電機大学(東京)

細沼 亜里沙, 番 美咲希, 桑原 志帆, 澤田 真末, 田端 彩菜, 知久 和寛, 吉田 充, 鈴木 彌生子, 米の産地判別への軽元素安定同位体比の利用, 日本応用糖質科学会平成 29 年度大会(第 66 回)・応用糖質科学シンポジウム, 2017 年 09 月 06 日, 日本大学(神奈川)

Yaeko SUZUKI, Arisa HOSONUMA, Shiho KUWAHARA, Misaki BAN, Mami SAWADA, Ayana TABATA and Mitsuru YOSHIDA, Stable isotope analysis($\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$, $\delta^{34}\text{S}$ and $\delta^{18}\text{O}$) of polished rice from Asian countries for tracing their geographical origin, 2016 年 11 月 17 日, シンガポール(パイオポリス)