

安定同位体比分析の食品分野への応用

はじめに

安定同位体比分析は、これまで地層、化石の年代推定や宇宙科学の分野で広く利用されてきましたが、最近では食品分野でも原材料証明や産地判別などに利用され始めてきました。

今回は、安定同位体比分析法の原理と、食品分野への応用例をご紹介します。

同位体とは

原子は、原子核と電子で構成され、さらに原子核は陽子と中性子で構成されています。陽子と中性子の重さはほぼ等しく、電子はそれらの1000分の1以下しかないので原子の重さは陽子と中性子の総数で決まります。これを質量数と呼びます。同位体(isotope)とは、原子番号(陽子の数)が等しく、中性子数(従って質量数)が異なる核種のことをいいます。

同位体には、不安定で放射能をもつ放射性同位体と、安定で崩壊しない安定同位体とがあります。例えば炭素では、 ^{12}C (質量数 12)と ^{13}C (質量数 13)が安定同位体であり、 ^{14}C (質量数 14)が放射性同位体です。

安定同位体比について

安定同位体は自然界では表-1に示すように各元素で一定の割合で存在します。例えば、炭素の場合は ^{12}C が98.89%に対して ^{13}C が1.11%存在します。しかしこの同位体比は試料の起源や周囲の環境要因などによりわずかではあるものの変化します。すなわち、安定同位体比を測定することで試料の起源などを推定できる可能性があります。炭素の安定同位体比を分析して解析する手法を炭素安定同位体比法(Stable Carbon Isotope Ratio Analysis: SCIRA法)と呼びます。

表-1 安定同位体の存在比

元素	同位体	存在比
水素	^1H	99.985 %
	^2H	0.015 %
炭素	^{12}C	98.89 %
	^{13}C	1.11 %
窒素	^{14}N	99.63 %
	^{15}N	0.366 %
酸素	^{16}O	99.76 %
	^{17}O	0.038 %
	^{18}O	0.204 %

例えば炭素の場合、 ^{12}C に対する ^{13}C の割合を炭素安定同位体比と呼び、 δ (デルタ)で表します。炭素の安定同位体比は、国際的に定められた標準物質*に対する $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ の偏差として以下の

式で表します。

$$\delta (\text{‰}) = \left(\frac{R_{\text{sample}}}{R_{\text{standard}}} - 1 \right) \times 1000$$

R_{sample} : 試料中の $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$

R_{standard} : 標準物質中の $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$

* : 炭素安定同位体比の標準物質としては、PDB (Pee Dee belemnite : アメリカ・サウスカロライナ州にある Pee Dee 層から産出したイカの仲間 belemnite の化石に含まれる炭酸カルシウム) が用いられる。

すなわち、標準物質中の $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ と試料中のそれがどのくらいの程度で異なるかを表します。この偏差はとても小さいので、1000 分率 (パーミル : ‰) で表します。ほとんどの場合、炭素の同位体には ^{13}C が標準物質よりも少ない比率でしか含まれていないため、同位体比としてはマイナスの値となることが多くなります。例えば、大気中の CO_2 は -8‰ ですが、これは大気中の CO_2 が標準物質よりも 8/1000 だけ $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ が少ないことを示しています。

同位体比質量分析計について

安定同位体比は安定同位体比質量分析計 (Isotope Ratio Mass Spectrometer; IRMS) で測定します。

それぞれの同位体は質量数が異なるため質量分析計で分別測定することができます。ただし質量分析計で試料中の安定同位体比を測定するためには、あらかじめ測定しようとする元素が気体になっている必要があります。すなわち、H, C, N, O の安定同位体比はそれぞれ H_2 , CO_2 , N_2 , O_2 などの気体にして測定することになります。そのため、前処理装置として燃焼装置 (元素分析計 Elemental analyzer; EA) を質量分析計に接続し、試料を燃焼することで無機ガス化して質量分析計に導入します。

例えば弊財団で保有する炭素安定同位体比測定システムでは、図-1 のように試料を燃焼して酸化炉及び還元炉の順で通過させながら試料中の有機物を CO_2 と N_2 に変換した後、質量分析計で質量数の違いにより同位体の量を測定してそれらの存在比を算出します。

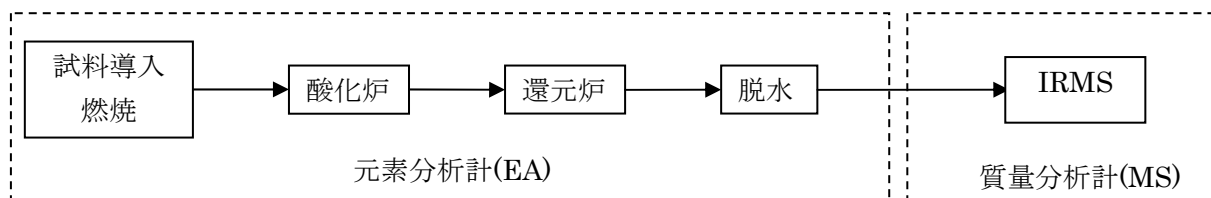


図-1 炭素安定同位体比測定システム

はちみつの真性評価への応用

最近、「純粋はちみつ」と表示されているにもかかわらず、はちみつ中に異性化糖が添加されているという事例が散発しています。(社)全国はちみつ公正取引協議会は異性化糖などを加えたはちみつを「加糖はちみつ」とすることを認めています。このため、加糖したこと自体が問題なのではなく、加糖しているにもかかわらず「純粋」と偽装表示を行ったことが問題なのです。

このような加糖はちみつと純粋はちみつの判別に SCIRA 法を利用することができます。その原理は次のようなものです。

植物は光合成により大気中の二酸化炭素を取り込み、糖などの炭素化合物を合成します。この炭素化合物の合成経路の違いにより C3 植物(はちみつの蜜源となるアカシヤ、レンゲ、クローバーなど)や C4 植物(異性化糖の原料に多いトウモロコシやサトウキビなど)などに分類されます。興味深いことに C4 植物と C3 植物の ^{13}C 取り込み量を比較すると、C4 植物は C3 植物に比べて高い割合で ^{13}C を取り込むことが知られています。したがって、はちみつ中の炭素安定同位体比を分析することにより、トウモロコシやサトウキビなどの C4 植物由来の異性化糖が含まれているかどうかを判別することができます。

具体的な手法¹⁾を以下に示します。はちみつ自体の炭素安定同位体比と、はちみつに種々存在する酵素などに主に由来するたんぱく質の炭素安定同位体比をそれぞれ測定します。はちみつは糖が主成分であるため、はちみつ自体の安定同位体比を糖の安定同位体比と考え、たんぱく質のそれと比較します。はちみつ中の糖の起源とたんぱく質の起源が同じであれば、それらの安定同位体比は一致するはずなので、以下の式により C4 植物由来の糖の含有率が計算できます。

$$\text{C4 含有率(\%)} = \frac{\delta_{\text{protein}} - \delta_{\text{honey}}}{\delta_{\text{protein}} - (-9.7)} \times 100$$

δ_{protein} : タンパクの δ 値

δ_{honey} : はちみつの δ 値

-9.7 : コーンシロップの δ 値の平均値

上記の計算式で C4 含有率を算出し、その結果が 7% 以上の場合に偽和が検出されたと判断します。

ただしこの方法では、イモ類などの C3 植物由来のデンプンを原料とする異性化糖が添加されていた場合は判別することができないという欠点があります。そのため薄層クロマトグラフ法 (TLC 法)²⁾による試験結果と合わせて判断することにより、より正しい判定が可能となります。

上記の SCIRA 法と TLC 法は、ともに国際的な標準法である AOAC 法として採用されています。

農畜産物の産地判別への応用

近年、食の安全への関心から国内産志向が高まるにつれ、外国産の農畜産物を国内産と偽る産地偽装が発生しています。最近、安定同位体比を用いた産地判別の研究が行われていますので、以下にご紹介します³⁾。

生物中の安定同位体比は、生物が利用した栄養や生育環境を反映することが知られており、DNA 解析や微量無機元素分析に続く産地判別技術として期待されています。

植物の炭素同位体比は、それらの生育した緯度、気候や土壌の水分条件など様々な要因により違いが現れると言われています。

このことを利用してコメの生産された地域(国)の判別が試みられています。例えば国産とオーストラリア産のコメの比較では、コメの酸素安定同位体比と、国際原子力機関が公表している世界の降水の酸素安定同位体比の傾向が一致することから、これを利用したコメの産地判別の可能性が示唆されています。牛肉の場合には、飼料中に占めるトウモロコシ(C4植物)の割合などに基づく炭素安定同位体比や、コメの場合と同様の飲み水由来による酸素安定同位体比がそれぞれ特徴的であることから、それらを用いた産地判別の可能性が考えられています。またウナギの場合には、飼料由来の炭素安定同位体比の違いに加えて、養殖時の水の違いや養殖形態すなわち露地養殖(台湾)、加温養殖(中国)、ハウス養殖(日本)の違いによる酸素及び窒素安定同位体比による判別の研究が進められています。

ただし、この技術により正確に産地判別を行うためには、複数の元素の同位体比を総合的に評価する必要があります。また地域特有の傾向を正確に把握するために正確かつ大量のデータベースの作成が不可欠となるため、今後の更なる調査・研究が期待されています。

参考文献・資料

- 1) Official Methods of Analysis (2005) 18th Ed., AOAC, Arlington, VA, sec. 998.12
- 2) Official Methods of Analysis (2005) 18th Ed., AOAC, Arlington, VA, sec. 979.22
- 3) 伊永隆史ら：化学， Vol. 63, No.11, 12-16 (2008)