

## 生元素安定同位体比解析によるコシヒカリの産地判別の可能性

鈴木彌生子, 中下留美子\*, 赤松史一<sup>\*§</sup>, 伊永隆史\*

首都大学東京大学院理学研究科

\* 首都大学東京大学院理工学研究科

### Tracing the Geographical Origin of Rice Applied by Stable Isotope Analysis

Yaeko Suzuki, Rumiko Nakashita\*, Fumikazu Akamatsu<sup>\*§</sup> and Takashi Korenaga\*

Department of Chemistry, Graduate School of Science, Tokyo Metropolitan University, 1-1 Minami Osawa, Hachioji, Tokyo 192-0397

\* Department of Chemistry, Graduate School of Science and Engineering, Tokyo Metropolitan University, 1-1 Minami Osawa, Hachioji, Tokyo 192-0397

Despite numerous problems with mislabeling of geographical origin of rice, scientific methods for tracing the origin of production are still lacking. In this study, we report that stable isotope analysis utilizing carbon, nitrogen, and oxygen is useful for tracing the geographical origin for rice grown in Japan, Australia, and the USA. Our results show that the average stable isotope ratios of Japanese rice were lower than those of Australia and the USA for carbon and nitrogen, respectively, and lowest among the three countries for oxygen. Stable isotope analysis will be a powerful tool for tracing the geographical origin of rice among countries when complemented with DNA and multi-element analyses.

(Received Dec. 17, 2007; Accepted Feb. 14, 2008)

**Keywords:** rice, carbon stable isotopes, nitrogen stable isotopes, oxygen stable isotopes

**キーワード:** コメ, 炭素安定同位体比, 窒素安定同位体比, 酸素安定同位体比

コメの産地判別技術は、消費者の食の安心・安全の確保、生産者の商品力維持にとっても重要である。2002年5月2日にJAS法に基づく表示制度が改正され、コメの産地・品種・年産などの表示が義務付けられた。科学的根拠に基づいた判別技術も開発されており、品種についてはDNA解析が実用化されている<sup>1)</sup>。しかし、同一品種の産地判別については、DNA解析では対応できない。

そこで、我々は、安定同位体比解析に着目した。植物組織における炭素、窒素、酸素などの安定同位体比は、植物が利用した栄養塩や、温度・湿度の違いといった生育環境

を反映することが知られている<sup>2)~7)</sup>。コメの安定同位体比解析は、DNA解析や微量無機元素解析<sup>8)</sup>に続く、有力な産地判別技術になる可能性がある。

本報告は、品種間差異を考慮して、コシヒカリ一品種に絞り、日本産、豪州産、米国産米を用いて、炭素・窒素・酸素安定同位体比解析による産地判別の可能性を検討した。コシヒカリは、国内の作付面積で最も多く<sup>9)</sup>、また、海外諸国でも戦略的品種として栽培されている品種である<sup>10)</sup>。

### 1. 材料および方法

試料は、2007年に収穫された日本産（慣行栽培米、N=38）、豪州産（ニューサウスウェールズ、N=16）、米国産（カリフォルニア、N=9）のイネ品種コシヒカリ (*Oryza sativa* subsp. *japonica* L.) の精米を用いた。

試料は、凍結乾燥後、粉末化し、元素分析計（Flash EA 1112HT, Thermo Fisher Scientific）を接続した質量分析計（Delta V Advantage, Thermo Fisher Scientific）で、炭素、窒素、酸素安定同位体比を測定した。それぞれの元素の安定同位体比は、標準試料からの千分偏差で表わした。これらは、次式、 $\delta X = (R_{\text{試料}}/R_{\text{標準}} - 1) \times 1000$  によって、 $\delta$  値として表記した。ここで、Xは、炭素、窒素、酸素に対して、それぞれ、<sup>13</sup>C, <sup>15</sup>N, <sup>18</sup>Oを表し、Rはそれぞれの元素の同位体比、<sup>13</sup>C/<sup>12</sup>C, <sup>15</sup>N/<sup>14</sup>N, <sup>18</sup>O/<sup>16</sup>Oである。標準試料は、炭素では PeeDee 層のヤシ類の化石、窒素では大気窒素、酸素は標準平均海水である。

各元素の安定同位体比の三ヵ国間の比較は、一元配置分散分析（one-way ANOVA）を用い、有意差が検出された場合、事後検定に Bonferroni の多重比較を用いて、二カ国間の比較を行った。

### 2. 実験結果および考察

コシヒカリの炭素、窒素、酸素安定同位体比は、日本産、豪州産、米国産でそれぞれ特有の分布を示し（図1、図2）、それぞれ一元配置分散分析で有意差が検出された（one-way ANOVA :  $F_{2,60} = 46.9, P < 0.001$ , 炭素 ;  $F_{2,60} = 134.3, P < 0.001$ , 窒素 ;  $F_{2,60} = 638.3, P < 0.001$ , 酸素）。これらの図は、生元素安定同位体比解析によって、コシヒカリの生産地を判別できる可能性を示唆している。

コシヒカリの炭素安定同位体比（ $\delta^{13}\text{C}$ ）は、米国産（平均値士標準偏差： $-25.6 \pm 0.3\text{\textperthousand}$ ）が日本産（ $-26.9 \pm 0.4\text{\textperthousand}$ ）と豪州産（ $-27.1 \pm 0.3\text{\textperthousand}$ ）よりも有意に高い値を示した（図1、それぞれ  $P < 0.001$ ）。日本産と豪州産の  $\delta^{13}\text{C}$  間には、有意差が検出されなかった（ $P > 0.05$ ）。植物の炭素源は、大気中の二酸化炭素であり、この  $\delta^{13}\text{C}$  は、 $-7\text{\textperthousand}$  程度を示す。大気中の二酸化炭素と植物組織の  $\delta^{13}\text{C}$  の違いは、植物の炭酸同化過程において、同位体分別が起こるために生じる<sup>11)</sup>。植物による二酸化炭素の取り込みは、植物の同化部に散在する気孔で行われるが、気孔の開閉は、植物が利用できる水分条件によって左右される<sup>11)</sup>。植物の水利用効率と植物組織の  $\delta^{13}\text{C}$  には、正の相関があることが報告され

〒192-0397 東京都八王子市南大沢 1-1

\* 〒192-0397 東京都八王子市南大沢 1-1

§ 連絡先 (Corresponding author), akamatsu@tmu.ac.jp

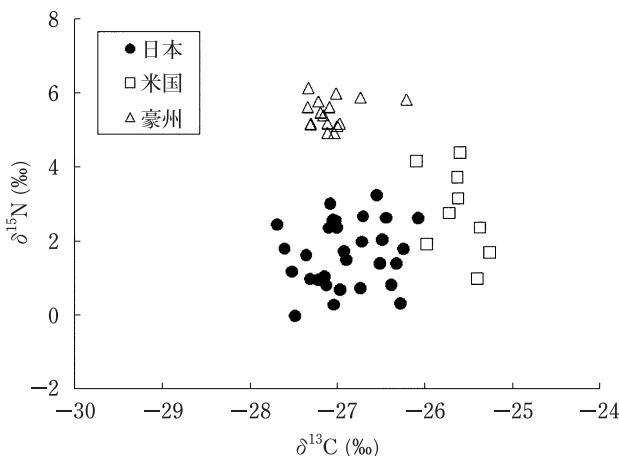


図 1 日本産、米国産、豪州産コメの炭素・窒素安定同位体比

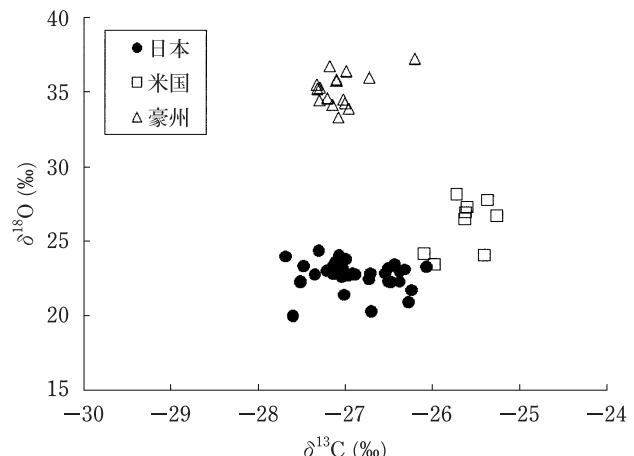


図 2 日本産、米国産、豪州産コメの炭素・酸素安定同位体比

ており、乾燥条件にある植物ほど、 $\delta^{13}\text{C}$  が高くなるとされている<sup>11)12)</sup>。土壤の水分条件など、植物の水利用環境の違いが、コシヒカリの $\delta^{13}\text{C}$  の違いに反映されているのかもしれない。

コシヒカリの窒素安定同位体比 ( $\delta^{15}\text{N}$ ) は、豪州産 (+5.4 ± 0.4‰), 日本産 (+1.6 ± 0.8‰), 米国産 (+2.8 ± 1.2‰) の順に高く、各國間で有意差が検出された(図 1, それぞれ  $P < 0.001$ )。植物の $\delta^{15}\text{N}$  は、植物が利用する硝酸態窒素やアンモニア態窒素などの窒素源の値を反映する<sup>13)</sup>。このような無機態窒素は、由来によって様々な値を持ち、一般的に堆肥由来の窒素は 10~20‰ 程度の高い $\delta^{15}\text{N}$  を示し<sup>14)</sup>、大気由来窒素を含む化学肥料は、約 0‰ 程度の低い $\delta^{15}\text{N}$  を示す<sup>15)</sup>。各国における施肥方法の違いが、コシヒカリの $\delta^{15}\text{N}$  に反映されているものと考えられる。

コシヒカリの酸素安定同位体比 ( $\delta^{18}\text{O}$ ) は、豪州産 (+35.2 ± 1.2‰), 米国産 (+26.1 ± 1.8‰), 日本産 (+22.6 ± 1.0‰) の順に高く、各國間で有意差が検出された ( $P < 0.001$ )。植物の $\delta^{18}\text{O}$  は、植物が利用する水源の $\delta^{18}\text{O}$  を主に反映することが報告されている<sup>9)</sup>。水の $\delta^{18}\text{O}$  は、温度や湿度などの気候によって変動することがわかっており<sup>8)</sup>、植物の $\delta^{18}\text{O}$  も、生育環境の気候の違いを反映するものと考えられている<sup>9)</sup>。各国の気候の違いが、コシヒカリの $\delta^{18}\text{O}$  に反映されていると推測される。

今後、世界貿易機構や自由貿易協定によって、国内市場における海外諸国産のコメの流通量が増加した場合、科学的根拠に基づいた食品のトレーサビリティ技術がなければ、消費者の食の安心・安全の確保、また国内生産者の商品力維持は、危うくなるだろう。

安定同位体比解析は、一試料あたりの測定時間が 10 分程度と短く、さらに炭素・窒素は同時測定が可能であることから、迅速かつ簡易な測定手法でもある。本手法は、DNA 判別や微量無機元素測定などの他の技術と相補的に利用すれば、強力な産地判別技術になる可能性がある。

### 3. 要 約

コメの産地偽装問題が起きており、コメの産地を科学的根拠に基づいて判別する技術が必要とされている。本研究は、日本産、豪州産、米国産コシヒカリを用いて、炭素・窒素・酸素安定同位体比解析を行い、安定同位体比解析によるコメの産地判別の可能性を検証した。解析の結果、日本産のコメの安定同位体比は、平均値で、炭素では米国産よりも 0.7‰、窒素では豪州産よりも 3.8‰ 低く、酸素では豪州産と米国産よりもそれぞれ 12.6‰, 3.5‰ 低い値を示した。安定同位体比から、日本産のコメは、他国産のコメと識別できることが明らかになった。安定同位体比解析は、DNA 判別や微量無機元素測定などの他の技術と相補的に利用すれば、強力な産地判別技術になる可能性がある。

試料収集にご協力いただいた社団法人日本精米工業会の山縣一郎氏に感謝する。本研究は、独立行政法人日本学術振興会の特別研究員制度および農業・食品産業技術総合研究機構生物系特定産業技術研究支援センターの新技術・新分野創出のための基礎研究推進事業の助成を受けて行われた。

### 文 献

- 1) 大坪研一, 中村澄子, 今村太郎, 米の PCR 品種判別におけるコシヒカリ用判別プライマーセットの開発, 日本農芸化学会誌, **76**, 388-397 (2002).
- 2) Smith, B.N. and Epstein, S., Influence of the diet on the distribution of carbon isotope fractionation, *Plant Physiol.*, **47**, 380-384 (1971).
- 3) Meints, V.W., Shearer, G., Kohl, D.H. and Kurtz, L.T., A comparison of unenriched vs. <sup>15</sup>N enriched fertilizer as a tracer for N fertilizer uptake, *Soil Sci.*, **119**, 421-425 (1975).
- 4) Kohl, D.H., Shearer, G.B. and Commons, B., Variation of <sup>15</sup>N in corn and soil following applications of fertilizer nitrogen, *Soil Sci Soc Am J.*, **37**, 888-892 (1973).
- 5) Shearer, G. and Legg, J.O., Variation in the natural abundance of <sup>15</sup>N of wheat plants in relation to fertilizer nitrogen applications, *Soil Sci Soc Am J.*, **39**, 896-901

- (1975).
- 6) Craig, H., Isotopic Variations in Meteoric Waters, *Science*, **133**, 1702–1704 (1961).
  - 7) Gray, J. and Thompson, P., Climatic information from  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$  ratio of cellulose in tree rings, *Nature*, **262**, 481–482 (1976).
  - 8) 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**, 405–410 (2000).
  - 9) 農林水産省大臣官房統計部, 平成 18 年産水稻の品種別収穫量, 【<http://www.maff.go.jp/tokei.html>】 (2007).
  - 10) 岩田忠寿, 海外における水稻品種コシヒカリの試作状況, 北陸作物学会報, **27**, 90–93 (1992).
  - 11) Farquhar, G.D. and Richards R.A., Isotopic composition of plant carbon correlates with water-use efficiency of wheat genotypes, *Aust J Plant Physiol*, **11**, 539–552 (1984).
  - 12) Cabuslay G.S., Ito O. and Alejar A.A., Physiological evaluation of responses of rice (*Oryza sativa* L.) to water deficit, *Plant Sci*, **163**, 815–827 (2002).
  - 13) Yoneyama, T., Matsumaru T., Usui K. and Engelaar, W. M.H.G., Discrimination of nitrogen isotopes during absorption of ammonium and nitrate at different nitrogen concentrations by rice (*Oryza sativa* L.) plants, *Plant Cell Environ*, **24**, 133–139 (2001).
  - 14) 徳永哲夫, 福永明憲, 松丸泰郷, 米山忠克, 堆肥および化学肥料を施用した水田における  $\delta^{15}\text{N}$  値を用いた水稻の起源別窒素量の推定の試み, 日本土壤肥料学雑誌, **71**, 447–453 (2000).
  - 15) Nakano A., Uehara1, Y. and Yamauchi A., Effect of organic and inorganic fertigation on yields,  $\delta^{15}\text{N}$  values, and  $\delta^{13}\text{C}$  values of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill. cv. Saturn) *Plant Soil*, **255**, 343–349 (2003).
  - 16) 立岩寿一, オーストラリアに於ける米流通と米先物市場形成の可能性, 先物取引研究, **9**, 175–194 (2004).

(平成 19 年 12 月 17 日受付, 平成 20 年 2 月 14 日受理)