生元素安定同位体比解析による養殖ウナギの産地判別の可能性

中下留美子[§], 鈴木彌生子, 一宮孝博, 伊永隆史

首都大学東京大学院理工学研究科

Stable Isotope Ratio Analysis for Verifying the
Geographical Origin of Cultured Eel in Japan

Rumiko Nakashita[§], Yaeko Suzuki, Takahiro Ichimiya
and Takashi Korenaga

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

We determined the carbon, nitrogen, and oxygen isotope ratios of domestic and imported (China and Taiwan) cultured eel, to devise a tool for verifying the geographical origin of eel commercially distributed in Japan. Carbon and nitrogen isotope ratios of domestic eel ($\delta^{13}\text{C} = -17.6 \pm 0.6\text{‰}$ (mean $\pm$ SD), $\delta^{15}\text{N} = +16.4 \pm 0.7\text{‰}$) were higher than those of Taiwan ($\delta^{13}\text{C} = -20.5 \pm 0.7\text{‰}$, $\delta^{15}\text{N} = +13.2 \pm 1.5\text{‰}$) and Chinese ($\delta^{13}\text{C} = -21.4 \pm 0.5\text{‰}$, $\delta^{15}\text{N} = +14.3 \pm 0.9\text{‰}$) eel. On the other hand, the oxygen isotope ratio of domestic eel ($+7.4 \pm 1.4\text{‰}$) was lower than that of Taiwan ($+10.0 \pm 1.3\text{‰}$) and Chinese ($+11.1 \pm 0.9\text{‰}$) eel. These results suggest that carbon, nitrogen and oxygen stable isotope ratio analysis is applicable as a potential tool for discriminating between domestic and imported cultured eels.

(Received Mar. 13, 2009 ; Accepted Jun. 2, 2009)

Keywords : eel, stable isotope ratio, geographical origin

キーワード : 窒素安定同位体比, 炭素安定同位体比, 酸素安定同位体比, ウナギ, 産地判別

農水産物の国産志向がますます高まる一方, 安価な輸入農水産物を国産と偽り販売する例は後を絶たない. 特に2008年夏はウナギの産地偽装が大きな社会問題となった.

現在, 日本で流通しているウナギは, 主に国産, 台湾産, 中国産の養殖ウナギである. 消費者の国産志向はウナギも例外ではなく, 中国産, 台湾産, 国産の順に卸値が上がる. そのため, 中国産は台湾産や国産に, 台湾産は国産に偽装されることが懸念されている.

これまでウナギの識別は様々な方法^{1)~4)}が試みられており, 中でもより信頼性の高い方法として, DNA分析³⁾や微量元素分析⁴⁾などが注目されてきた. 中国産ウナギには, 国産ウナギとは異なる品種であるヨーロッパウナギ (*Anguilla anguilla*) も存在するため, その場合はDNA分析による種別判定による産地判別が可能である. しかし, 同じジャポ

ニカ種 (*Anguilla japonica*) である中国産や台湾産ウナギは国産ウナギと区別できないことから, 微量元素分析による産地判別の可能性が検討されており, 更なる精度の向上が求められている.

そこで, 我々は, 近年新たな手法として注目されている安定同位体比解析に着目した. 動物組織における炭素, 窒素, 酸素などの生元素の安定同位体比は, 摂取した食物や生育環境の水を反映することが知られている^{5)~9)}. すでにヨーロッパでは, この安定同位体比解析に着目した様々な食品表示の信憑性に関する研究が行われており^{10)~12)}, 国内でもコメや牛肉でその有用性が示されている^{13)~16)}.

本研究では, 日本国内において主に流通している国産, 中国産, 台湾産養殖ウナギの炭素・窒素・酸素安定同位体比解析を行い, 輸入ウナギと国産ウナギの判別の可能性について検討した.

1. 実験方法

(1) 試料

2008年7-8月に国産 ($n=16$), 中国 (広東省) 産 ($n=10$), 台湾 (台南) 産 ($n=10$) の養殖ウナギを収集した. 国産は, 静岡県浜名湖産 ($n=3$), 愛知県一色産 ($n=4$), 三重県桑名産 ($n=3$), 宮崎産 ($n=3$), 鹿児島産 ($n=3$) の養殖ウナギで, 各産地の養鰻場を訪問し, 現地で収集した. 中国産および台湾産は, ウナギ輸入業者から, 素性の確かな養殖ウナギを譲り受けた.

(2) 分析

分析には, ウナギの筋肉部分を用いた. ウナギの背の部分から1-2gを薄くスライスして切り取り, chloroform/methanol (2/1, v/v) 液で脱脂後, 凍結乾燥し, 粉碎し, 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 (δ 値) は, 試料の同位体比 ($R_{\text{試料}}$) と標準試料のそれ ($R_{\text{標準}}$) から次の式で表示され, 単位はパーミル (‰) を用いる.

$$\delta X = (R_{\text{試料}}/R_{\text{標準}} - 1) \times 1000 (\text{‰})$$

ここで, X は, 炭素, 窒素, 酸素に対して, それぞれ, ^{13}C , ^{15}N , ^{18}O を表し, R はそれぞれの元素の同位体比, $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$, $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$, $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ である. 標準試料は, 炭素では Pee Dee 層のヤイン類の化石 (PDB), 窒素では大気窒素 (AIR), 酸素は標準平均海水 (V-SMOW) の国際標準物質を用いた.

統計処理は, 一元配置分散分析 (one-way ANOVA) を用いて, 三ヵ国間の各元素の安定同位体の比較を行った. 有意差が検出された場合, Bonferroni の多重比較を用いて事後検定を行った.

2. 実験結果と考察

国産, 中国産, 台湾産ウナギの炭素・窒素・酸素安定同位体比を表1に示した. 三ヵ国間の各元素の安定同位体比

〒192-0397 東京都八王子市南大沢 1-1

[§] 連絡先 (Corresponding author), nakasita@tmu.ac.jp

表 1. 国産および輸入養殖ウナギの炭素・窒素・酸素安定同位体比 (平均値±標準偏差%)。

	<i>n</i>	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	$\delta^{18}\text{O}$ (‰)
国産	16	16.4±0.7a	-17.6±0.6a	7.4±1.4a
中国産	10	14.3±0.9b	-21.4±0.5b	11.1±0.9b
台湾産	10	13.2±1.6b	-20.5±0.7c	10.0±1.3b

異なる添え字は, Bonferroni による有意差 ($P < 0.05$) を表す。

には, 有意差が検出され (one-way ANOVA: $F_{2,33} = 131.2$, $P < 0.001$ in C; $F_{2,33} = 30.5$, $P < 0.001$ in N; $F_{2,33} = 29.7$, $P < 0.001$ in O), 安定同位体比解析による産地判別の可能性が示唆された。

ウナギの炭素安定同位体比 ($\delta^{13}\text{C}$) は, 国産 ($-17.6 \pm 0.6\text{‰}$, 平均値±標準偏差), 台湾産 ($-20.5 \pm 0.7\text{‰}$), 中国産 ($-21.4 \pm 0.5\text{‰}$) の順で高く, 三ヵ国間に有意差が検出された (表 1)。また, ウナギの窒素安定同位体比 ($\delta^{15}\text{N}$) は, 国産 ($+16.4 \pm 0.7\text{‰}$) が中国産 ($+14.3 \pm 0.9\text{‰}$) および台湾産 ($+13.2 \pm 1.6\text{‰}$) より有意に高い値を示したが, 中国産および台湾産においては有意な差は見られなかった (表 1)。動物組織の炭素および窒素安定同位体比は餌を主に反映すると考えられることから^{5)~7)}, 各国間でのウナギ養殖における餌の違いを反映した結果であると考えられる。養殖ウナギの餌には, 主に魚粉 (スケソウダラ, アジ, イワシ等), 魚油 (スケソウ, サーモン, イカ, イワシなど, 植物性のコーン油や大豆油を使用することもある), α 化澱粉 (馬鈴薯, タピオカなど), ビタミン, ミネラルなどが用いられているが, その詳細な内訳や割合は地域や製造業者によって異なっている可能性がある。今後, 餌の情報とその安定同位体比を合わせて考察することが必要である。

一方, ウナギの酸素安定同位体比 ($\delta^{18}\text{O}$) は, 中国産 ($+11.1 \pm 0.9\text{‰}$) および台湾産 ($+10.0 \pm 1.3\text{‰}$) が国産 ($+7.4 \pm 1.4\text{‰}$) よりも有意に高い値を示し, 中国産および台湾産の間では有意差は見られなかった (表 1)。動物組織の酸素同位体比は主に生育水の酸素同位体比を反映していると考えられる⁸⁾⁹⁾。地球規模でみると, 降水の酸素同位体比は低緯度で高く, 高緯度へ向かうにつれて低くなることから¹⁷⁾, ウナギの生育水である養殖池の水の酸素同位体比もまた低緯度にある中国および台湾において, 日本より高い値を示したと考えられる。コメや牛肉の酸素同位体比においても, 産地が大きく離れている場合, 生育地の酸素同位体比を反映することが示されており¹⁵⁾¹⁶⁾, ウナギについても同様の結果が得られた。

以上の結果より, 国産養殖ウナギと輸入ウナギ (中国産・台湾産) は, 炭素・窒素・酸素安定同位体比による判別の可能性が示唆された。ただし, ウナギの炭素および窒素同位体比は, 餌により左右されるため, 飼料事情の変化に伴い, 大きく変動する可能性もあることから, 注意が必要である。今後, 試料数を増やして更なる検討を行った上

で, 産地毎のウナギの同位体比についてデータベース化が求められると考えられる。将来, DNA 解析による品種判別や微量無機元素による産地判別などと総合的に用いることによって有用な産地判別技術となりうるだろう。

3. 要 約

日本国内で主に流通している国産養殖ウナギと輸入 (国産・台湾産) 養殖ウナギの産地判別の可能性を検討するため, 炭素・窒素・酸素安定同位体比を測定した。その結果, 炭素および窒素同位体比は, 国産ウナギ ($\delta^{13}\text{C} = -17.6 \pm 0.6\text{‰}$ (平均値±標準偏差), $\delta^{15}\text{N} = +16.4 \pm 0.7\text{‰}$) は, 台湾産 ($\delta^{13}\text{C} = -20.5 \pm 0.7\text{‰}$, $\delta^{15}\text{N} = +13.2 \pm 1.6\text{‰}$) および中国産 ($\delta^{13}\text{C} = -21.4 \pm 0.5\text{‰}$, $\delta^{15}\text{N} = +14.3 \pm 0.9\text{‰}$) よりも有意に高い値を示し, 餌の違いを反映していると考えられた。また, 酸素同位体比は, 生育水の違いを反映して, 国産ウナギ ($+7.4 \pm 1.4\text{‰}$) が, 中国産 ($+11.1 \pm 0.9\text{‰}$) および台湾産 ($+10.0 \pm 1.3\text{‰}$) よりも有意に低い値を示した。以上のことから, 炭素・窒素・酸素安定同位体比により国産養殖ウナギと輸入養殖ウナギとの産地判別の可能性が示唆された。

本研究を行うにあたり, 貴重なご意見と試料収集にご協力を頂いた寺尾義行氏 (日清丸紅飼料株式会社 中部・東部水産営業部) に感謝する。また, 試料収集にご協力頂いた, カネキ養魚場 (静岡県浜松市), 石原商店 (愛知県幡豆郡一色町), 諸戸養鰻 (三重県桑名郡木曽三崎町), 大森淡水 (宮崎県宮崎市塩路), 楠田養鰻 (鹿児島県志布志市) に感謝する。なお, 本研究は, 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) 谷口順彦, 高橋次郎, 小西芳信, ヨーロッパおよび日本ウナギの生化学的識別法に関する研究, 日水誌, **38**, 627-631 (1972).
- 2) 岡村明浩, 張 寰, 山田祥朗, 宇藤朋子, 三河直美, 堀江則行, 田中 悟, 元信堯, 判別関数式によるニホンウナギとヨーロッパウナギの識別, 日水誌, **67**, 1056-1060 (2001).
- 3) 若尾卓成, 疋田雄一, 常吉俊宏, 梶 真壽, 久保田裕明, 久保田隆之, PCR-制限断片多型法を用いたウナギ種簡易 DNA 鑑定, 日水誌, **65**, 391-399 (1999).
- 4) Yamashita, Y., Omura, Y. and Okazaki, E., Distinct regional profiles of trace element content in muscle of Japanese eel *Anguilla japonica* from Japan, Taiwan, and China. *Fish. Sci.* **72**, 1109-1113 (2006).
- 5) DeNiro, M.J. and Epstein S., Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals. *Geochim. Cosmochim. Acta*, **42**, 495-506 (1978).
- 6) DeNiro, M.J. and Epstein S., Influence of diet on the distribution of nitrogen isotopes in animals. *Geochim. Cosmochim. Acta*, **45**, 341-351 (1981).
- 7) Minagawa, M. and Wada, E., Stepwise enrichment of ^{15}N along food chains: further evidence and the relation between $\delta^{15}\text{N}$ and animal age. *Geochim. Cosmochim. Acta*,

- 38, 1135-1140 (1984).
- 8) Bowen, G.J., Wassenaar, L.I. and Hobson, K.A., Global application of stable hydrogen and oxygen isotopes to wildlife forensics. *Oecologia*, **143**, 337-348 (2005).
- 9) Podlesak, D.W., Torregrossa, A., Ehleringer, J.R., Dearing, M.D., Passey, B.H. and Cerling, T.E., Turnover of oxygen and hydrogen isotopes in the body water, CO₂, hair, and enamel of a small mammal. *Geochim. Cosmochim. Acta*, **72**, 19-35 (2008).
- 10) Kelly, S., Heaton, K. and Hoogewerff, J., Tracing the geographical origin of food : The application of multi-element and multi-isotope analysis. *Trends Food Sci. Technol.*, **16**, 555-567 (2005).
- 11) Franke, B.M., Gremaud, G., Hardorn, R. and Kreuzer, M., Geographic origin of meat-elements of an analytical approach to its authentication. *Eur. Food Res. Technol.*, **221**, 493-503 (2005).
- 12) Karoui, R. and De Baerdemaeker, J., A review of the analytical methods coupled with chemometric tools for the determination of the quality and identity of dairy products. *Food Chem.*, **102**, 621-640 (2007).
- 13) Suzuki, Y., Chikaraishi, Y., Ogawa, N.O., Ohkouchi, N. and Korenaga, T., Geographical origin of polished rice based on multiple element and stable isotope analyses. *Food Chem.* **109**, 470-475 (2008).
- 14) Nakashita, R., Suzuki, Y., Akamatsu, F., Iizumi, Y., Korenaga, T. and Chikaraishi, Y., Stable carbon, nitrogen, and oxygen isotope analysis as a potential tool for verifying geographical origin of beef. *Anal. Chim. Acta*, **618**, 148-152 (2008).
- 15) 鈴木彌生子, 中下留美子, 赤松史一, 伊永隆史, 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. 食科工, **55**, 250-253 (2008).
- 16) 中下留美子, 鈴木彌生子, 赤松史一, 小原和仁, 伊永隆史, 安定同位体比解析による国産・豪州産・米国産牛肉の産地判別の可能性. 食科工, **55**, 191-193 (2008).
- 17) Craig, H., Isotopic Variations in Meteoric Waters, *Science*, **133**, 1702-1704 (1961).
- (平成 21 年 3 月 13 日受付, 平成 21 年 6 月 2 日受理)
-