安定同位体比分析によるしらす干しの原料原産地判別の可能性

小泉鏡子^{1*}, 中下留美子^{2,3}, 鈴木彌生子^{2,4}

¹ 静岡県水産技術研究所

² 日本認証サービス株式会社

³ 独立行政法人森林総合研究所

⁴ 独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構
食品総合研究所

Stable Isotope Analysis for Verifying the Geographical
Origin of Shirasuboshi

Kyoko Koizumi^{1*}, Rumiko Nakashita^{2,3}
and Yaeko Suzuki^{2,4}

¹ Shizuoka Prefectural Research Institute of Fishery,
3690 Kogawa, Yaizu, Shizuoka 425-0033

² Japan Certification Services, Inc., 4-5-17
Chigasakihigashi, Tsuduki-ku, Yokohama,
Kanagawa 224-0033

³ Forestry and Forest Products Research Institute,
1 Matsunosato, Tsukuba, Ibaraki 305-8687

⁴ National Food Research Institute, 2-1-12
Kan-nondai, Tsukuba, Ibaraki 305-8642

We examined the use of stable carbon and nitrogen isotope ratios as a potential tool for verifying the geographical origin of Shirasuboshi. Products from 9 primary Shirasuboshi-producing areas in Japan and those imported from China and Korea were examined. The 9 primary production areas in Japan were classified into three groups by cluster analysis of stable carbon and nitrogen isotope ratios. Furthermore, Shirasuboshi imported from China was characterized by higher carbon and lower nitrogen isotope ratios than those from Japan and Korea. These results suggest that stable carbon and nitrogen isotope ratios are useful as tools for determining the geographical origin of Shirasuboshi.

(Received Nov. 24, 2010 ; Accepted Feb. 17, 2011)

Keywords : Shirasuboshi, stable carbon isotope ratio, stable nitrogen isotope ratio, geographical origin

キーワード : しらす干し, 炭素安定同位体比, 窒素安定同位体比, 原料原産地判別

しらす干しは、明治初期から加工が行われている伝統的な水産加工品で、ニシン目の稚仔魚（シラス）を食塩水中で短時間煮熟して乾燥させた製品であり、福島県以南の太平洋沿岸の広い地域で生産されている。なお、しらす干し

とは主に関東地方（中部以東）での呼称であり、関西地方ではちりめん、ちりめんじゃこと呼ばれている¹⁾。

国産しらす干しにはブランド価値による産地間の価格差が存在し²⁾、各産地ではブランドの保護・強化のために他産地との差別化が望まれている。また、現在年間約1000トンのしらす干しがインドネシア、中国、タイ、韓国などから輸入されており³⁾、2008年には、タイ産しらす干しを淡路島産ちりめんじゃこと偽る偽装事件が発生したことなどから、科学的根拠に基づいた原料原産地判別技術が求められている。

赤崎らは、輸入しらす干しの原料魚について、インドネシア産およびタイ産は、マイワシ属、カタクチイワシ属、ウルメイワシ属のいずれにも該当しないが、中国産、韓国産は、いずれもカタクチイワシ属であると確認している⁴⁾⁵⁾。一方、国産しらす干しの原料魚はそのほとんどがカタクチイワシ、マイワシであること¹⁾から、DNA分析による国内産地間判別や国産しらす干しと中国産、韓国産しらす干しとの判別は困難である。そこで、筆者らは、DNA分析や微量無機元素分析に続く産地判別技術として注目されている軽元素の安定同位体比分析に着目した。

軽元素（炭素・窒素・酸素・水素）の安定同位体比は生息地域・生育環境を反映することから、同じDNA配列を持つ同一の生物間でも異なる値を示す。さらに、各元素によって反映する要因が異なり、動物の炭素・窒素安定同位体比は餌の値を反映することが経験則として知られているほか、生物の酸素・水素安定同位体比は生育環境中の水や気候条件（温度・湿度など）を反映することが報告されている⁶⁾。こうした特徴を生かして、安定同位体比分析はワイン⁷⁾、米⁸⁾、リンゴ果汁⁹⁾などさまざまな食品の産地判別において有用性が報告されている。

さらに、安定同位体比は起源生物や生合成過程、生育環境などの情報を保存していることから、物質循環の解明や食物網の構造解析、動物の食性解析といった生態学分野でも広く利用されてきた¹⁰⁾。田中らは、日本近海のカタクチイワシの炭素・窒素安定同位体比（ $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ ）に海域による差異が見られたと報告している¹¹⁾。また、中国に近い東シナ海には窒素固定能を備えた *Trichodesmium* 属などの藍藻類が存在しており¹²⁾、これらの藍藻類の窒素固定によって産生された $\delta^{15}\text{N}$ 値の低い有機物の影響により、東シナ海の生物の $\delta^{15}\text{N}$ 値が他の海域の生物に比べて低いことが予想される。さらに、海洋植物プランクトンの $\delta^{13}\text{C}$ 値は高緯度地方ほど低くなることから、魚類においては高緯度海域で摂餌活動が行われると $\delta^{13}\text{C}$ 値が低くなり、低緯度海域で摂餌活動が行われると $\delta^{13}\text{C}$ 値が高くなるとされている¹³⁾。

これらの知見をもとに、本研究では、国産（9産地）、中国産、韓国産のしらす干しについて、炭素・窒素安定同位体比を比較し、しらす干しの原料原産地判別の可能性につ

¹ 〒425-0033 静岡県焼津市小川 3690

² 〒224-0033 神奈川県横浜市都筑区茅ヶ崎東 4-5-17

³ 〒305-8687 茨城県つくば市松の里 1

⁴ 〒305-8642 茨城県つくば市観音台 2-1-12

* 連絡先 (Corresponding author), kyoko1_koizumi@pref.shizuoka.lg.jp

いて検討した。

1. 実験方法

(1) 試料

2008 年 8 月に国内 9 産地（福島県、茨城県、愛知県、兵庫県、徳島県、広島県、愛媛県、宮崎県、鹿児島県）のしらす干しを、2007 年 6 月から 9 月に中国産、韓国産のしらす干しを、それぞれ 1 ロットずつ収集した。全ての試料は、分析に用いるまで -30°C で保存した。

(2) 分析

国内 9 産地のしらす干しについては、1 尾を 1 検体とする個別分析を行った。中国産、韓国産しらす干しについては、漁場や漁獲日が異なる試料が混在している可能性があったため、2 g を 1 検体とするバルク分析を行った。国産しらす干し 1 尾 (0.02~0.10 g) あるいは中国産、韓国産しらす干し 2 g (中国産 : 80~90 尾, 韓国産 : 120~135 尾) を 1 検体として凍結乾燥し、乳鉢で粉碎後、クロロホルム/メタノール混液 (2/1, v/v) で脱脂処理を行い、脱脂後、再び凍結乾燥したものを測定用試料とした。国産しらす干し 9 産地および中国産、韓国産しらす干しについて各 10 検体ずつ、合計 110 検体について測定を行った。

炭素、窒素安定同位体比は、元素分析計 (Flash EA 1112, Thermo Fisher Scientific) を接続した質量分析計 (Delta V Advantage, Thermo Fisher Scientific) を用いて分析を行った。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。X は炭素、窒素に対して、それぞれ ^{13}C 、 ^{15}N を表し、R はそれぞれの元素の同位体比、 $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ 、 $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ である。標準試料として、炭素では Pee Dee 層のヤシシ類の化石 (PDB)、窒素では大気窒素 (AIR) を用いた。

統計処理については、統計解析ソフト SPSS (16.0J, 日本アイ・ビー・エム株式会社) を用いた。国産しらす干しの産地間比較では、Ward 法によるクラスター分析を行った。国産と中国産、韓国産しらす干しの比較では、一元配置分散分析 (one-way ANOVA) を行い、有意差が検出された場合には、Scheffe の方法を用いて多重比較を行った。

2. 実験結果および考察

国内 9 産地および中国産、韓国産しらす干しの炭素・窒素安定同位体比 ($\delta^{13}\text{C} \cdot \delta^{15}\text{N}$) を Fig. 1 に、国内 9 産地のしらす干しの $\delta^{13}\text{C} \cdot \delta^{15}\text{N}$ 値を用いてクラスター分析を行った結果を Fig. 2 に示した。

クラスター分析の結果、国内 9 産地 90 検体は 3 つのグループに分類され、グループ I は九州地方 (宮崎県、鹿児島県)、グループ II は瀬戸内海東部から太平洋沿岸地方 (福島県、茨城県、愛知県、兵庫県、徳島県)、グループ III は瀬戸内海西部地方 (広島県、愛媛県) の産地であった。各グループの $\delta^{13}\text{C} \cdot \delta^{15}\text{N}$ 値を比較すると、 $\delta^{13}\text{C}$ 値はグループ I (九州地方)・グループ III (瀬戸内海西部地方) がグルー

Fig. 1 Distribution of stable carbon and nitrogen isotope ratios of Shirasuboshi

Refer to Fig. 2 about group. Δ , group I; $\circ$, group II; $\square$, group III; $\blacktriangle$, China; $\blacksquare$, Korea.

There were significant differences ($p < 0.001$) in the stable carbon and nitrogen isotope ratios among the three groups as well as among Shirasuboshi from China, Korea and Japan

プ II (瀬戸内海東部から太平洋沿岸) より有意に高く、 $\delta^{15}\text{N}$ 値はグループ III がグループ I・II より有意に高かった (Fig. 1, Table 1).

田中らは、日本周辺の様々な海域から採集したカタクチワシの $\delta^{13}\text{C} \cdot \delta^{15}\text{N}$ 値はともに大きな変動幅を持っており ($\delta^{13}\text{C}$: $-20.6 \sim -14.2\text{‰}$, $\delta^{15}\text{N}$: $7.2 \sim 17.8\text{‰}$), 沿岸域・内湾域のもので高く、沖合域のもので低い傾向が見られたと報告している。さらに、 $\delta^{13}\text{C}$ 値が高い個体は概ね $\delta^{15}\text{N}$ 値も高く、両者に有意な正の相関が見られたこともあわせて報告している¹¹⁾。

今回分析した 90 検体については、グループ II において $\delta^{13}\text{C}$ 値が低く $\delta^{15}\text{N}$ 値が高い個体が数個体確認されたが、それらの個体を除けば田中らの報告にある $\delta^{13}\text{C} \cdot \delta^{15}\text{N}$ 値の分布範囲内に含まれていた。また、グループ I は九州北西部や太平洋沖合域の値と重なっており、地域的な一致も見られた。

また、高井ら¹⁴⁾ や中島ら¹⁵⁾ は、瀬戸内海の広島湾や瀬戸内海に面した香川県沿岸域で採集したカタクチワシについて、 $\delta^{13}\text{C}$ 値は -16.5‰ より低く、 $\delta^{15}\text{N}$ 値は 13‰ より高かったと報告しているほか、中島ら¹⁵⁾ は、瀬戸内海では陸域からの人間活動由来の $\delta^{13}\text{C} \cdot \delta^{15}\text{N}$ 値の高い有機物が、海域の食物連鎖に大きく寄与している可能性を示唆している。本研究においても、瀬戸内海西部地方のしらす干しの $\delta^{13}\text{C} \cdot \delta^{15}\text{N}$ 値は他の産地より有意に高く、前述の田中ら¹¹⁾ が報告したカタクチワシの $\delta^{13}\text{C} \cdot \delta^{15}\text{N}$ 値の変動幅の中でも沿岸域や内湾域で見られた高い値に相当しており、生息環境の影響を大きく反映していると考えられた。

以上のように、安定同位体比分析により国内 9 産地は、九州地方、瀬戸内海東部から太平洋沿岸地方、瀬戸内海西部地方の 3 つのグループに分類された。

一方、輸入しらす干しにおいては、国産、中国産、韓国

Fig. 2 Dendrogram of 90 samples of Shirasuboshi from 9 producing areas in Japan by cluster analysis using Ward method

9 primary Shirasuboshi-producing areas in Japan were classified into three groups by the cluster analysis based on the stable carbon and nitrogen isotope ratios

Table 1 $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ values (means $\pm$ standard deviation) of Shirasuboshi for 3 groups classified by cluster analysis

Group	n	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$
I	20	-16.9 ± 0.3^a	10.1 ± 0.6^a
II	50	-18.9 ± 0.6^b	10.4 ± 0.9^a
III	20	-17.2 ± 0.4^a	12.5 ± 0.6^b

Different letters in the same column indicate a significant difference (Scheffe test, $P < 0.001$)

産しらす干しの $\delta^{13}\text{C}$ ・ $\delta^{15}\text{N}$ 値に有意差が検出された ($p < 0.001$). 中国産しらす干しの $\delta^{13}\text{C}$ 値 ($-16.5 \pm 0.3\text{‰}$, 平均 $\pm$ 標準偏差) は, 国産 ($-18.2 \pm 1.0\text{‰}$), 韓国産 ($-18.2 \pm 0.2\text{‰}$) よりも有意に高い値を示し ($p < 0.01$), $\delta^{15}\text{N}$ 値は, 中国産 ($8.0 \pm 0.3\text{‰}$) が, 国産 ($10.6 \pm 1.3\text{‰}$), 韓国産 ($10.8 \pm 0.2\text{‰}$) よりも有意に低い値を示した ($p < 0.01$) が, 国産と韓国産の間では, $\delta^{13}\text{C}$ ・ $\delta^{15}\text{N}$ 値ともに有意差は見られなかった.

海洋植物プランクトンの $\delta^{13}\text{C}$ 値には緯度依存性があり, その影響によって低緯度海域に生息している魚類の $\delta^{13}\text{C}$ 値は高緯度海域の魚類に比べて高いとされている¹³⁾. また, *Trichodesmium* 属などの窒素固定能をもつ藍藻類が産生する $\delta^{15}\text{N}$ 値の低い有機物の影響により, 東シナ海の生物の $\delta^{15}\text{N}$ 値が他の海域の生物に比べて低くなると予想される. 今回見られた国産と中国産しらす干しの $\delta^{13}\text{C}$ ・ $\delta^{15}\text{N}$ 値の差はこれらの知見と対応した傾向であった.

ただし, 本研究で用いた試料は, 輸入しらす干しについては 2007 年, 国産しらす干しについては 2008 年単年の試料であり, ロット数や検体数も少ない. 田中らは, 長崎県橘湾で収集したカタクチイワシの炭素・窒素安定同位体比は季節により変動すると報告している¹⁶⁾ ことから, 季節変動や経年変動の有無について検討する必要がある. また, 輸入しらす干しについては, 数十キロという単位で輸入されるため, 同じロットでも漁場や漁獲日の異なるしらす干しが混在している可能性が高いため, 漁場や漁獲日等の明らかな試料の収集については今後の検討課題である.

これまで, 安定同位体比分析による国産を含む食品の産地判別については, 米⁸⁾・リンゴ⁹⁾といった農作物においてその有用性を示す報告が数多くなされているものの, 動物では家畜(牛肉¹⁷⁾), 水産物では養殖ウナギ¹⁸⁾やウナギ加工品¹⁹⁾などいずれも飼育されたものおよびその加工品に関する報告がなされているにすぎない. しかし, 本研究の結果, 養殖ではなく天然海域で漁獲された水産物の加工品であるしらす干しにおいても安定同位体比分析による原料原産地判別の可能性が示唆された.

3. 要 約

本研究では, 炭素・窒素安定同位体比分析によるしらす干しの原料原産地判別の可能性について検討した. 国産し

らす干しの炭素・窒素安定同位体比を用いてクラスター分析を行ったところ、国内 9 産地を九州、瀬戸内海東部から太平洋沿岸、瀬戸内海西部の 3 つのグループに分類することが出来た。各グループの $\delta^{13}\text{C}$ ・ $\delta^{15}\text{N}$ 値を比較すると、 $\delta^{13}\text{C}$ 値は九州地方 ($-16.9 \pm 0.3\%$ 、平均 $\pm$ 標準偏差) および瀬戸内海西部地方 ($-17.2 \pm 0.4\%$) が瀬戸内海東部から太平洋沿岸地方 ($-18.9 \pm 0.6\%$) より有意に高く、 $\delta^{15}\text{N}$ 値は瀬戸内海西部地方 ($12.5 \pm 0.6\%$) が九州地方 ($10.1 \pm 0.6\%$) および瀬戸内海東部から太平洋沿岸地方 ($10.4 \pm 0.9\%$) より有意に高かった。輸入しらす干しについては、 $\delta^{13}\text{C}$ 値は中国産しらす干し ($-16.5 \pm 0.3\%$) が国産 ($-18.2 \pm 1.0\%$)、韓国産 ($-18.2 \pm 0.2\%$) よりも有意に高い値を示し、 $\delta^{15}\text{N}$ 値は中国産 ($8.0 \pm 0.3\%$) が国産 ($10.6 \pm 1.3\%$)、韓国産 ($10.8 \pm 0.2\%$) よりも有意に低い値を示したが、国産と韓国産の間には炭素・窒素安定同位体とも有意差は見られなかった。以上の結果から、養殖ではなく天然海域で漁獲された水産物の加工品であるしらす干しにおいても安定同位体比分析による原料原産地判別の可能性が示唆された。

文 献

- 1) 矢口登希子, しらす干し, 「全国水産加工品総覧」, 第 1 版, 福田 裕, 山澤正勝, 岡崎恵美子監修, (光琳, 東京), pp. 72-76 (2005).
- 2) 東京都中央卸売市場月報水産物編.
- 3) 財務省貿易統計, 品別国別表, 1604.16-000, 【<http://www.customs.go.jp/toukei/index.htm>】 (2010).
- 4) 赤崎哲也, 猿渡敏郎, 片山貴之, 朝長洋祐, ミトコンドリア DNA (シトクローム *b*) を利用した「ちりめんじゃこ」の原料魚種推定について, 関税中央分析所報, **45**, 5-9 (2005).
- 5) Akasaki, T., Saruwatari, T., Tomonaga, H., Sato, S. and Watanabe, Y., Identification of imported Chirimen at the genus level by a direct sequencing method using mitochondrial partial 16S rDNA region. *Fish. Sci.*, **72**, 686-692 (2006).
- 6) 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).
- 7) Roßmann, A., Reniero, F., Moussa, I., Schmidt, H.L., Versini, G. and Merle, M.H., Stable oxygen isotope content of water of EU data-bank wines from Italy, France and Germany. *Eur. Food Res. Technol.*, **208**, 400-407 (1999).
- 8) 鈴木彌生子, 中下留美子, 赤松史一, 伊永隆史, 安定同位体比分析による国産米の産地及び有機栽培判別の可能性, 分析化学, **58**, 1053-1058 (2009).
- 9) 中下留美子, 鈴木彌生子, 安定同位体比分析による国産及び輸入リンゴ果汁の原産国判別の可能性, 分析化学, **58**, 1059-1061 (2009).
- 10) 和田英太郎, 安定同位体比精密測定法による陸上生態系の解析, 日本生態学会誌, **47**, 333-336 (1997).
- 11) Tanaka, H., Takasuka, A., Aoki, I. and Ohshimo, S., Geographical variations in the trophic ecology of Japanese anchovy, *Engraulis japonicus*, inferred from carbon and nitrogen stable isotope ratios. *Mar. Biol.*, **154**, 557-568 (2008).
- 12) 酒井 均, 松久幸敏, 窒素の同位体地球化学, 「安定同位体地球化学」, 第 1 版第 3 刷, (東京大学出版会, 東京), pp. 326-329 (1996).
- 13) 高井則之, 富永 修, 安定同位体比手法とは, 「安定同位体スコープで覗く海洋生物の生態—アサリからクジラまで」, 第 1 版, 富永 修, 高井則之, (恒星社厚生閣, 東京), p. 16 (2008).
- 14) Takai, N. and Mishima, Y., Carbon sources for demersal fish in the western Seto Inland Sea, Japan, examined by $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ analyses. *Limnol. Oceanogr.*, **47**, 730-741 (2002).
- 15) 中島紗知, 山田佳裕, 多田邦尚, 香川県の沿岸域における魚類の炭素・窒素安定同位体比の分布, 香川大学農学部学術報告, **59**, 59-64 (2007).
- 16) Tanaka, H., Ohshimo, S., Takagi, N. and Ichimaru T., Investigation of the geographical origin and migration of anchovy *Engraulis japonicus* in Tachibana Bay, Japan: A stable isotope approach. *Fisheries Research*, **102**, 217-220 (2010).
- 17) 中下留美子, 鈴木彌生子, 伊永隆史, 渡辺伸枝, 田中公一, 安定同位体比分析による日本国内に流通する牛肉の産地判別, 分析化学, **58**, 1023-1028 (2009).
- 18) 中下留美子, 鈴木彌生子, 一宮孝博, 伊永隆史, 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, 食工誌, **56**, 495-497 (2009).
- 19) 鈴木彌生子, 中下留美子, 伊永隆史, 安定同位体比分析によるウナギ加工品の産地判別の可能性, 分析化学, **58**, 1067-1070 (2009).

(平成 22 年 11 月 24 日受付, 平成 23 年 2 月 17 日受理)