

<平成 28 年度助成>

# 日本における山椒利用の体系化 — 遺伝的分類による食味特性・官能特性の特徴づけと食文化的考察 —

永野 幸生<sup>1)</sup>・福留 奈美<sup>2)</sup>・山崎 一諒<sup>3)</sup>・早川 文代<sup>4)</sup>

(<sup>1)</sup> 佐賀大学 総合分析実験センター、<sup>2)</sup> お茶の水女子大学 基幹研究院  
(<sup>3)</sup> 兵庫大学 健康科学部、<sup>4)</sup> 国立研究開発法人農研機構 食品研究部門)

## 1. 諸言

山椒は、Japanese pepper と英訳され、日本の食文化を特徴づける日本独自の香辛料である。早春に芽吹く若葉は「木の芽」と呼ばれ、季節感の重視を特徴とする和食文化の中で、春を表す重要な食材の一つとして吸い物や筍の煮物等に使われる。5～6月に採れる青い実は、爽やかな香りと辛味を有し、ちりめん山椒をはじめ、関西ではよく煮物に使われる。秋に熟した実は乾燥粉末にして粉山椒として食される。また、古くから知られる有馬山椒の生産地では、希少な部位である花や樹皮を食べる習慣が残っている。しかし、全国的には鰻の蒲焼きにかけられる粉山椒が代表的な利用法であり、日本が誇る日本独自の香りともいえる山椒の歴史の変遷の中での利用法や、料理の中で品種の特徴を含めた体系だった利用法の整理まではされていない。

本研究では、日本全国で栽培および自生する山椒の代表的な地域のものを採取・分析し、山椒の遺伝的情報による系統分類、および果実の香気成分特性から特徴づけを行った。また、産地ごとに山椒の利用法は歴史的に異なるが、近年 6 次産業化の流れを受け、山椒果実の利用、花山椒の利用などが相互に影響し合い変化しつつある状況について報告する。

## 2. 方法

### 2-1. サンプルングおよび地域の利用特性の調査

サンプルングについては、2017 年 3 月～10 月にかけて、ゲノム解析用の生葉と成分分析用の果実

の採取を行った。対象は、山林や庭先に自生する木、山林の自生木から穂木または苗木を移植した木、系統が分かる穂木または苗木を畑に移植した栽培木等とした。採取地は、朝倉山椒、有馬山椒、高原山椒それぞれの原産地域と考えられる兵庫県の養父市、および有馬町周辺、岐阜県高山市の 3 地域を中心に、その周辺と、郷土料理や菓子に山椒利用が見られる他地域 12 箇所を加えた。なお、全国生産量の 80% 近くを占める和歌山県では、そのほとんどが栽培種のブドウサンショウであるため、ながみね地区の栽培木を含めた。

また、各地のサンプルングを行う際に、山椒利用の歴史的背景や現在の利用法等についての聞き取り調査を行った。

### 2-2. ゲノム解析の方法

山椒葉より DNA を抽出し、電気泳動法で精製度を確認し、蛍光法で濃度を測定した。96 検体について、次世代シーケンサーによる部分ゲノム解析法 (ddRAD-Seq)<sup>1)</sup> で解析した。その際、龍谷大学農学部 永野惇研究室で行われている受託サービスを利用した。得られたデータから多型情報を取得し、近隣結合法により系統分類した。

### 2-3. 香気成分分析の方法

#### 2-3-1. 市販山椒粉末の香気成分分析

市販の山椒粉末 8 種および生産者からサンプル提供を受けた 2 種の山椒粉末について香気成分の分析を行った。香気成分分析は、バイアルにサンプル 2 g を入れ、Monolithic Material Sorptive Extraction

(MMSE) 法<sup>2)</sup>によりヘッドスペース内の香気成分を捕集し、ジクロロメタンによって脱着させ GC/FID 分析に供した。成分の同定は、標準試薬を用いた保持時間の比較および GC/MS 分析により行った。GC/MS 分析については、北海道大学グローバルファシリティセンターで行われている機器分析受託サービスを利用した。得られた結果は、山椒の主な香気成分とされている  $\alpha$ -ピネン、ミルセン、リモネン、 $\beta$ -フェランドレン、シトロネラル、リナロール、酢酸ゲラニル、ゲラニオール、その他に分類した<sup>3)</sup>。

### 2-3-2. ゲノム解析に用いた試験木果実の香気成分分析

ゲノム解析に用いた試験木の内、果実が採取できたものについて香気成分分析を行った。山椒果実は、採取地から冷蔵配送し、受け取り後直ちに分析を実施した。分析を行うまでに時間がかかる場合は、到着後直ちに  $-80^{\circ}\text{C}$  で保存した。香気成分の分析手順は、2-3-1. と同様である。

以上、2-3-1,2 で得られた結果を、クラスター分

析 (Ward 法) を用いて分類し、検討した。

### 2-4. 官能評価の方法

2-3-1. の 10 種の市販粉末試料について、分析型パネルによるナッピング法を用いた官能評価による各種粉山椒の香りの類似性の評価を行った。得られた結果に、多因子分析およびクラスター分析 (Ward 法) を適用して解析した。

## 3. 結果

### 3-1. 地域・山椒別の栽培と利用の傾向

主要 3 地域の栽培の傾向と利用特性の概要を表 1 に示す。

### 3-2. ゲノム解析

ゲノム解析に用いた山椒葉の採取地情報を表 2 に示す。

96 検体を次世代シーケンサーで解析し、約 160 億塩基対からなるデータを得た。これをコンピュー

表 1 主要 3 地域の栽培の傾向と利用特性

地域・山椒	栽培の傾向と利用
兵庫県 養父市 朝倉山椒	<ul style="list-style-type: none"> <li>アサクラサンショウの原産地といわれる養父市では、徳川家康に献上したことで知られる青い実山椒の利用が主である。</li> <li>近年、花山椒と赤く熟した実山椒の出荷も試験的に始めている。</li> <li>朝倉山椒組合を組織し、特定の圃場の母木からとった穂木で接木した苗木を育てている。地域内で「朝倉山椒」ブランドの木、1 万本を植樹する目標が立てられ達成目前である。</li> </ul>
兵庫県 有馬町他 有馬山椒	<ul style="list-style-type: none"> <li>有馬山椒は、もともとは雄木の花山椒の利用が主目的である。</li> <li>六甲山の山中にある雄木の所在は、代々長子にしか受け継がないといわれるほど貴重な資源的意味を持つものであった。</li> <li>現在も、5 月初めに花山椒を採りに山に入る人がいるが、場所は公表されていない。</li> <li>栽培木としては雌木の実山椒の収穫が主である。</li> <li>山中から穂木を採取し、兵庫県立農林水産技術総合センターで接木し育成された母木があり、有馬山椒のブランドで売れる栽培木を増やしている。</li> </ul>
京都・奈良他 花山椒	<ul style="list-style-type: none"> <li>花山椒は、古くから京都の懐石料理店で小規模に使用されてきたが、2014 年頃から関東・関西両地域でブームとなり、ピーク時には 100g5000 円以上の値がつくようになった。</li> <li>京都の青果市場には、京都府の京丹波町、奈良県五條市の山椒農家が精力的に出荷しており、市場関係者によると、時期をずらして和歌山や兵庫からも入荷がある。</li> </ul>
岐阜県 高山市 高原山椒	<ul style="list-style-type: none"> <li>アサクラサンショウとともに知られる品種のタカハラサンショウ (高原山椒) は、岐阜県高山市の標高の高い地域で栽培されている。</li> <li>他地域では台木としてフユザンショウやイヌザンショウを用いて接木によって栽培木を増やしていくが、高原山椒は収穫した実からとった種を撒き、実生で育てる点異なる。</li> <li>家庭ごとに山椒の利用はあるものの、地域を代表する郷土料理等、古くからの利用法はない。</li> <li>高原山椒組合の契約農家が栽培する青い実山椒は、ほぼ全量が京都の老舗の七味製造店に利用される。もう一つの主要な生産者は、花山椒の佃煮、青い実山椒の佃煮、青い実と赤い実の粉山椒の加工等、幅広く商品開発を行い、通販でも販路を拡大している。</li> </ul>

表2 ゲノム解析の試料採取地

地域	採取地概要	ゲノム検体数 (計96)
兵庫県養父市	養父市内の山林、自然林道、母木圃場、栽培畑、旧家屋の跡地等	33
兵庫県神戸市北区	有馬町 (有馬温泉郷市街地近郊)、大沢町、六甲山	17
その他の兵庫県	美方郡3、豊岡市1	4
岐阜県高山市	奥飛騨温泉郷の高原山椒組合栽培畑および飛騨山椒 (株) の契約栽培地	15
その他の地域	秋田県秋田市1、山形県鶴岡市3、新潟県阿賀町2、東京都足立区1、滋賀県長浜市1、石川県能登3、京都府京丹波町4、京都府綾部市2、奈良県五條市4、和歌山県JAながみね2、高知県佐川町・南国市4	27

タで解析し、29,177個からなる多型情報を得た。この多型情報に基づいて、95検体を近隣結合法で分類した結果を図1に示す。なお、96検体中1検体については十分量のデータが得られなかった。系統分類についての詳察は、今後英語論文投稿を予定しており、ここでは系統分類した試料群の概要について述べる。

まず、グループAの〔61, 62〕は和歌山県の栽培種ブドウサンショウの小グループである。グループBは、8検体からなる大グループに、有馬温泉の市街地に近い稲荷山から採取した技術試験場の母木3検体〔63, 64, 65〕の小グループが属するもので、他の5検体〔29, 31, 32, 30, 48〕は市街地近郊の個人宅の庭に自生する木であった。グループCの〔92, 93〕は、山形県鶴岡市の菓子製造業社敷地内の1本と、琵琶湖湖畔の農家が栽培する1本である。所有者によると、この2本はそれぞれ、栽培木ではなく自生木であるとのことで、遺伝的に近縁であるものが異なる生育地で自生している一つの例である。グループDの13検体は一つの大グループを形成し、飛騨高山の高原山椒系である。グループEの6検体〔66, 67, 69, 28, 68, 27〕は、六甲山の湯船谷地区で採取して技術試験場の母木として育成した4本と、花山椒の道案内人が六甲山から庭に移植した2本の木である。次のグループFは17検体で形成される大クラスターで、兵庫県養父市の朝倉山椒組合が増やしている栽培木を含め、養父市内の豊産性の高い栽培木、京都および奈良の主力農家の栽培木も含まれた、栽培種としてのアサクラサンショウ系統であった。グループGでは、9検体からなる大グルー

プに、福島県境の山中で採取した新潟県阿賀町の2検体〔78, 79〕の小グループが属する。新潟以外の検体は、兵庫県美方郡の山椒畑〔83〕、石川県能登半島の山中〔95, 94, 96〕、山形県鶴岡市内の個人宅庭〔91, 90〕、秋田県山中からの移植〔84〕で、日本海側に広い範囲で分布する自生木で構成されている。最後のグループHは、郷土菓子として山椒餅を作っている高知県佐川町の農家の畑に自生した木2検体〔74, 75〕と、少し離れた南国市の山中に自生する木〔76〕である。A～Hに含まれず明確なグループを形成していないものの多くは、兵庫県養父市の自生木であり、その他、兵庫県の養父市以外〔82, 85, 50〕、東京都〔2〕、高知県〔77〕、岐阜県〔42〕が含まれていた。

以上より、地域別にまとまりを持ったグループと、自生木については東北から関西まで距離的にかなり離れていながらも同じグループを形成するものがあった。また、最も重要な発見は、栽培されている山椒が単系統ではないこと、つまり、山椒の栽培化が日本各地で起こったということである。

その他、ゲノム解析で得られた重要な知見としては、1) 棘の有無で群分けができないこと、2) オス／メスで群分けができない (性決定に関わるDNA配列は大きくない) という2点がある。

### 3-3. 香気成分分析の結果

#### 3-3-1. 市販山椒粉末の香気成分分析結果

山椒の主要な香気成分としてミルセン、リモネン、β-フェランドレン、シトロネラル、酢酸ゲラニ

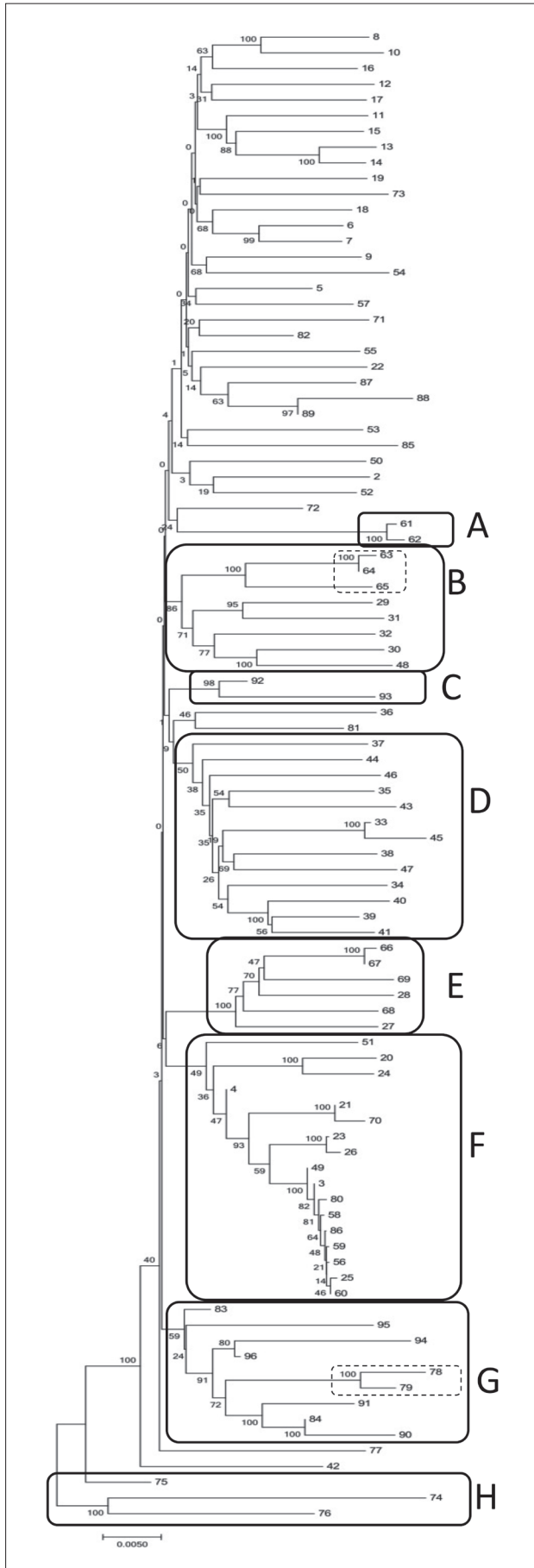


図1 ゲノム解析結果に基づく山椒 95 検体の系統分類

ル等が検出された。各成分の組成は産地ごとに特徴を示しており、クラスタ分析の結果、次の①～⑤の5グループに分類された。成分組成の代表的なパターンを図2に示す。①リモネンを主体とし、次いで $\beta$ -フェランドレンが多く、シトロネラルや酢酸ゲラニルが少ないグループ、②リモネンを主体とし、次いで $\beta$ -フェランドレンが多く、シトロネラルや酢酸ゲラニルが多く検出されるグループ、③リモネン、 $\beta$ -フェランドレン、酢酸ゲラニルが同程度存在し、その他のピークが多かったグループ、④リモネンを主体とし、 $\beta$ -フェランドレン、シトロネラル、酢酸ゲラニルが少ないグループ、⑤ $\beta$ -フェランドレンを主体とし、次いでリモネンが多く、シトロネラルや酢酸ゲラニルが多いグループ、からなる。

リモネンや $\beta$ -フェランドレンは柑橘系やペパーミント様の爽やかな香りがあるとされていることから、グループ①や④はより爽やかさを感じやすい可能性が考えられる。一方、シトロネラルや酢酸ゲラニルは、柑橘系の甘い香りやバラ様のフローラルな香りがあるとされている。グループ②や⑤については、爽やかさの中に甘い香りを感じやすいことが考えられる。

### 3-3-2. ゲノム解析に用いた試験木果実の香気成分分析結果

試験木果実から得られた結果についてもクラスタ分析を行った。その結果、大きく5つのグループに分類された。試験木果実から得られた結果では、市販品で見られたグループに加えて、リモネン主体で、 $\beta$ -フェランドレンがほとんど検出されず、シトロネラル、酢酸ゲラニルがわずかに検出されるというグループがあった。これは市販品では確認されなかった特徴であり、非常に興味深い結果である。香気成分のクラスタ解析結果とゲノムによる分類では、部分的な一致はあったものの相関性は見られず、今後、さらに詳細な検討を行う。



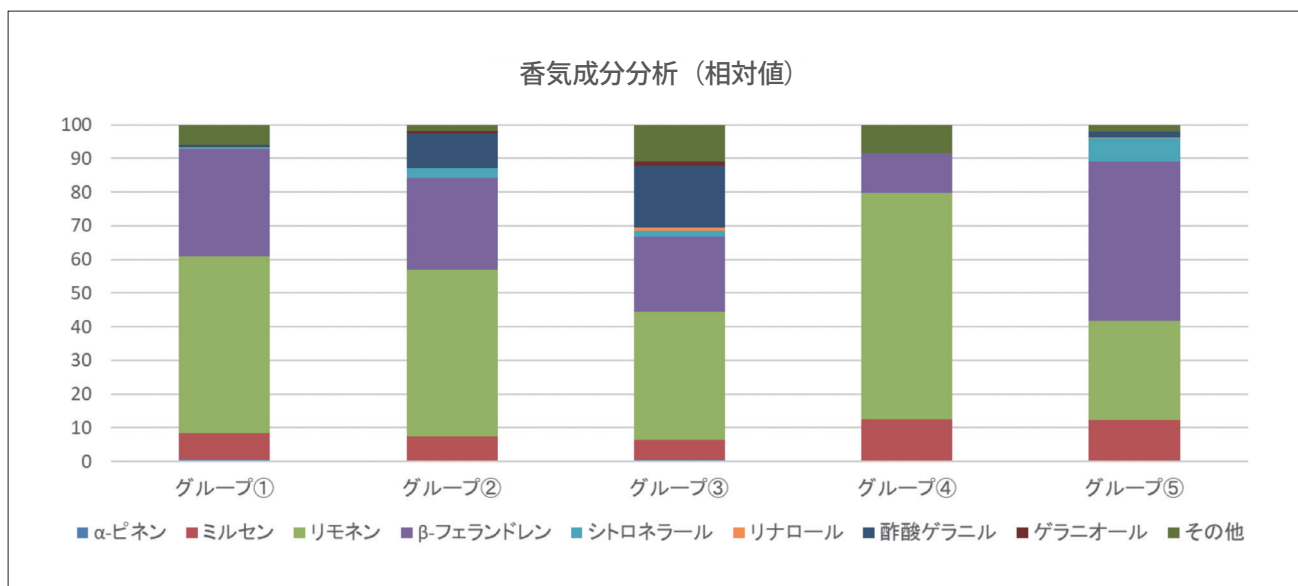


図2 市販山椒粉末の香気成分組成のパターン

### 3-4. 官能評価の結果

香気成分分析で5つのグループに分けられた10種の試料について分析型パネルによる評価を行った結果、官能評価によっても同様のグループに分けることができた。

## 4. まとめ

山椒の栽培・利用の傾向についてまとめた。また、山椒を遺伝的に分類し、山椒の栽培化が日本各地で起こったことが分かった。さらに、香気成分分析と官能評価に基づいて分類し、両者の間に相関があることが分かった。一方、香気成分分析・官能評価による分類と遺伝的分類に相関はなかった。これら4つの方法で体系化した山椒に関する情報は、各地域における山椒の活用のために有用である。

## 謝 辞

本研究の遂行にあたり、貴重な研究助成を賜りました公益財団法人 浦上食品・食文化振興財団、および山椒の収集にご協力を頂いた皆様に厚く御礼申し上げます。

## 参考文献

- 1) Peterson B. K. *et al.*, (2012) Double digest RADseq: an inexpensive method for de novo SNP discovery and genotyping in model and non-model species. *PLoS One* 7: e37135
- 2) Jang HJ *et al.*, (2011) Optimization of Disk Sorptive Extraction Based on Monolithic Material for the Determination of Aroma Compounds from *Lantana camara* L. by Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *Bull. Korean Chem. Soc.* 32: 4275-4280
- 3) Jiang L, Kubota K. (2014) Differences in the volatile components and their odor characteristics of green and ripe fruits and dried pericarp of Japanese pepper (*Xanthoxylum piperitum* DC.). *J Agric Food Chem.* 52: 4197-203.

## **Systematic Classification of Sansho Japanese Pepper Use in Japan –Characterization of flavor and sensory traits through genetic classification and food culture considerations**

**Yukio NAGANO<sup>1)</sup>, Nami FUKUTOME<sup>2)</sup>,  
Kazuaki YAMASAKI<sup>3)</sup>, and Fumiyo HAYAKAWA<sup>4)</sup>**

*<sup>1)</sup> Saga University, <sup>2)</sup> Ochanomizu University,  
<sup>3)</sup> Hyogo University, <sup>4)</sup> Food Research Institute, NARO*

### Summary

Sansho, or Japanese pepper, is a unique spice that characterizes Japanese food culture. From spring to autumn, young shoots, male plant flowers, young green peppercorns, and ground ripened red peppercorns can be used in various foods. With its distinctive aroma and seasonal association, sansho constitutes an indispensable component of Japanese cuisine. However, the only mode of consumption found widely throughout Japan is as a powdered spice for sprinkling over grilled eel, and very little academic research has been conducted on the difference between cultivated trees and native species, or on regional differences between cultivated species.

In this research study, we sampled both cultivated and indigenous trees from three areas that have long been known for producing sansho, as well as in areas from Tohoku to Shikoku where regional dishes and confections feature sansho. We classified samples through both a genome analysis and a fragrance composition analysis of the fruit. The genome analysis allowed us to classify 96 samples across eight characteristic clusters, including: Asakura Sansho, cultivated in Yabu City, Hyogo Prefecture; Budo Sansho, cultivated in Wakayama; Takayama Sansho, endemic to the Hida-Takayama region; and, two different varieties from the Arima region of Hyogo – one from an indigenous tree on Rokko Mountain, and the other from a native species near the town of Arima Onsen. The results of the analysis indicated that the cultivated trees were domesticated independently, while the fragrance composition analysis of the fruit revealed a characteristic scent pattern based on limonene and citronellal citrus scents, geraniol and geranyl acetate floral scents, and the green-like scent of phellandrene. These findings made it possible to characterize the regional varieties of sansho.