

# 博士論文

未熟および完熟山椒エキスの  
減塩における有効性の検討

2021 年 11 月

龍谷大学大学院 農学研究科 食農科学専攻 博士後期課程  
N19D003 樋爪彩子

## 目次

|                                 |    |
|---------------------------------|----|
| 第1章 序論                          | 1  |
| 第2章 未熟および完熟山椒エキスの味の増強効果の比較      | 8  |
| 第3章 未熟および完熟山椒エキスの分画物での味の増強効果の比較 | 18 |
| 第4章 完熟山椒エキスの有効成分の同定             | 29 |
| 第5章 結論                          | 36 |
| 引用文献                            | 37 |
| 謝辞                              | 41 |

# 第1章

## 序論

### 1.1 日本における減塩の必要性

食塩の摂り過ぎは、高血圧をはじめ、胃がん等の疾病リスクを高めることが報告されている<sup>1, 2)</sup>。また、日本人の非感染性疾患および外因による死亡に寄与するリスク因子の中で、食塩の過剰摂取は5番目に挙げられており<sup>3)</sup>、血圧が正常な人にとっても適切な食塩摂取量を守ることが望まれている。2020年に改定された日本人の食事摂取基準では、1日あたりの食塩摂取量の目標値は、男性で7.5g未満、女性では6.5g未満となり、2015年版と比べて0.5g低く設定された<sup>4)</sup>。また、世界を見てみると、日本の基準よりも更に厳しく、世界保健機関（WHO）のすべての成人の食塩摂取量の目標値は5gに設定されている<sup>5)</sup>。しかしながら、実際の食塩摂取量は減少傾向にはあるものの、「平成30年度国民健康・栄養調査結果」によると、日本人の1日の平均食塩摂取量は男性11.0g、女性9.3gであり<sup>6)</sup>、目標値の達成に至っていないのが現状である（図1）。

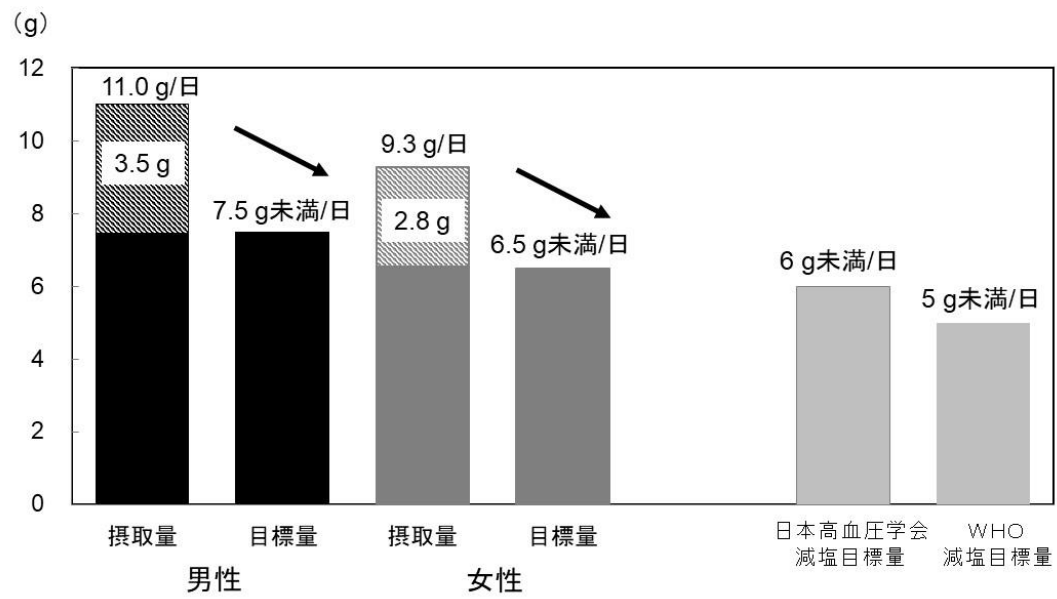


図 1. 日本人の塩分摂取量

本論文では、目標の食塩摂取量に抑えるために普段の食事の塩分量を下げることを減塩、その塩分量を抑えた食事を減塩食と定義する。目標の食塩摂取量を達成するためには、減塩が必要不可欠であるが、減塩にすることで、薄味になる、味がぼける等、風味への影響が大きい<sup>7)</sup>ため、通常の味付けに比べおいしさが損なわれてしまいやすい<sup>7)</sup>。減塩食の味に対する課題が、食塩摂取量の目標達成を困難にしていると考えられる。

## 1.2 減塩による風味変化の課題

食品における食塩の効果は、単なる塩味の付与だけではなく、風味全体の強度に影響されている。減塩による風味の変化を経時的に調べると、口に含んですぐの先味においては、塩味の減少、味の立ち上がりが弱くなっているように感じ、中味においては、味の厚みの低下が見られ、後味においては味の伸びがなくなると報告されている（図2）。先味における塩味の低下以外は、食塩単体を食したときでは感じられず、食塩を食品に添加することによって、初めて確認できる現象である<sup>8)</sup>。これらの、先味の強さ、味の厚み、後味の伸びにもたらす食塩の効果をも、味の増強効果と定義する。減塩により、味の増強効果が失われることが、食品のおいしさや満足度の低下につながっていると考えられる。

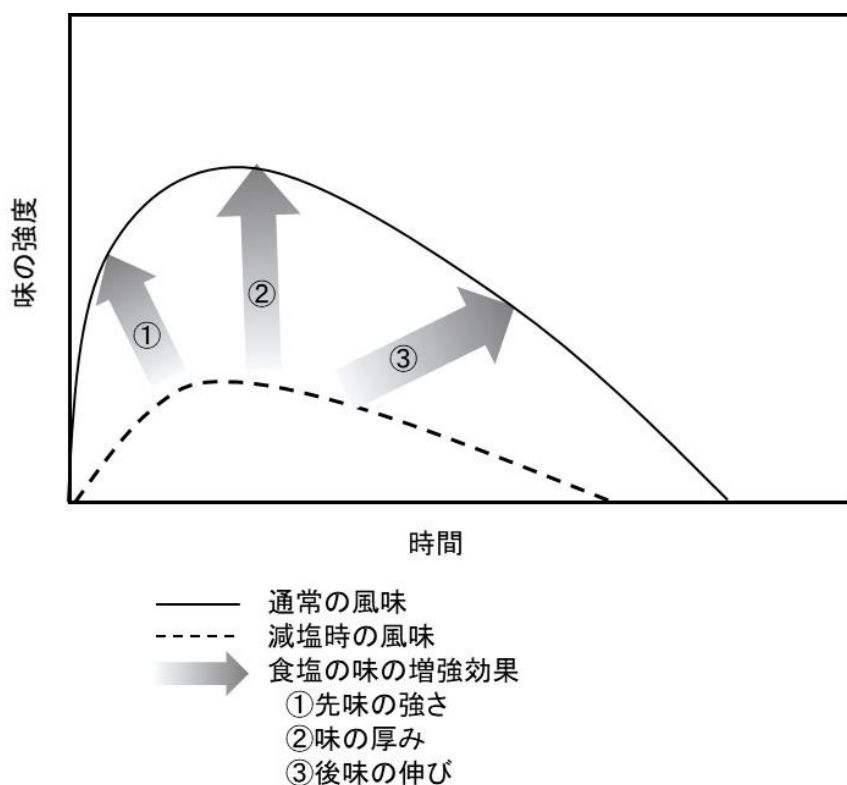


図2. 食塩による味の増強効果

### 1.3 山椒の減塩における有用性

おいしさを損なうことなく食事の塩分量を減らす調理上の工夫として、香辛料を活用することが経験的に知られている。本研究では、日本の代表的な香辛料である山椒 (*Zanthoxylum piperitum*) に着目した。

山椒は、ミカン科の植物であり、調味料として古くから日本料理に重用されてきた。料理への使われ方は、山椒の生育段階によって異なる。春先から初夏にかけては、若葉を木の芽として吸い物等に使う。また、5～6月にかけて種が柔らかいうちは実を生のまま佃煮等に用いる。6～8月にかけて種が固くなると緑色の実を乾燥させて挽き、粉末にして利用する。9～10月にかけて熟度が増すと、樹上で実が赤くなり、緑色のものと同様に粉末化して利用する<sup>9, 10)</sup>。赤く熟した完熟山椒は、緑色の未熟山椒よりもフローラルな香りになり、上品な風味が特徴的である<sup>11)</sup> (図3)



図3. 未熟山椒と完熟山椒  
左：未熟山椒（青山椒） 右：完熟山椒（赤山椒）

また、山椒には独特の辛味やしびれ感がある。辛味やしびれ感をもたらす主な成分は、図4に示す様にヒドロキシ- $\alpha$ -サンショール等のサンショール類によるものである報告されている<sup>12)</sup>。ヒドロキシ- $\alpha$ -サンショールは比較的低辛味ではあるが、唐辛子のカプサイシンや胡椒のピペリン、生姜のジンゲロン等と同様に TRPV1 受容体を介して口腔内では辛味として作用する<sup>13, 14)</sup>。サンショールは、TRPV1 だけではなく、カリウムチャネル (KCNK3 および

KCNK18)にも作用し、触覚に分類される感覚神経を活性化することが報告されている<sup>15)</sup>。舌の神経を興奮させ、まるで電気を流しているような状態を起こしていることが、山椒独特の強い「しびれ」を感じる理由であると考えられている。

サンショールには塩味増強効果があると報告されており、減塩食への利用が検討されている<sup>16-18)</sup>。また、サンショールとよく似た構造の化合物として、スピラントールがある(図4)。これは、ハーブの一種であるキク科植物オランダセンニチ(*Spilanthes acmella* Linn., 別名ハトウガラシ)の辛味成分であり、山椒に似た辛味やしびれ感がある。スピラントールも、サンショールと同じく、塩味増強効果を有することが報告されている<sup>18-21)</sup>。

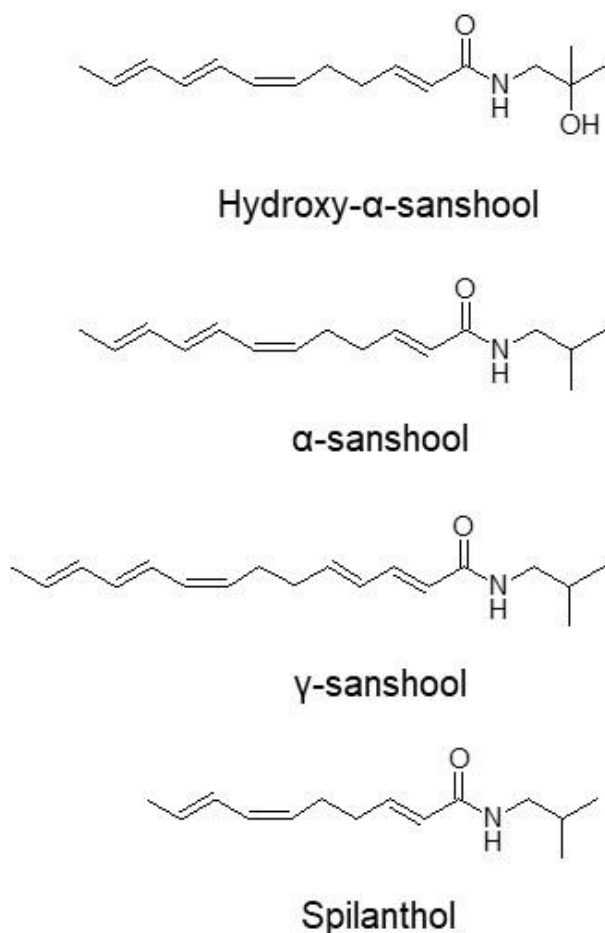


図4. サンショール類とスピラントールの構造

本研究では、塩味増強効果があると報告されている山椒に着目し、熟度が異なる山椒エキ스가、減塩食の風味に対してどのような味の増強効果を及ぼすかを調べた。また、熟度による効果の差異から、サンショール類とは異なる、減塩に有効な新たな成分が存在する可能性を見出した。

## 第2章

### 未熟および完熟山椒エキスの味の増強効果の比較

#### 2.1 研究目的

山椒は、塩味増強効果を有し、その寄与成分はサンショールであると報告されている。しかし、山椒の塩味増強効果とは、減塩食に対して、「先味の強さ」、「味の厚み」、「後味の伸び」のいずれに効果があるのかは明らかとなっていない。また、山椒は図3に示すように、熟度によって香りや風味、色合いが変化するが、熟度によって味の増強効果がどう変化するかは調べられていない。

そこで、本研究では、熟度が異なる山椒エキスを、減塩食の風味に対してどのような味の増強効果を及ぼすかを、VAS（Visual Analogue Scale）法およびTI（Time Intensity）法を用いて調べた。

## 2.2 実験材料と方法

### (1) 実験材料

#### 1) 山椒

山椒の中で最も一般的な品種である，和歌山産のブドウ山椒 (*Zanthoxylum piperitum*) を使用した。5～8 月に採取された果実が緑色の山椒（以下，未熟山椒），9～10 月に採取された果実が赤色の山椒（以下，完熟山椒）の，生の果実の冷凍品をかんじゃ山椒園より購入し，使用した。

#### 2) かつお出汁

山椒の味の増強効果を測定するための評価食として，均一でシンプルな風味のかつお出汁を用いた。濃縮液体タイプの，株式会社マルハチ村松の濃厚だし（かつおぶし）を購入し，使用した。超純水製造装置（Milli-Q，メルク株式会社製）で作製した超純水で上記の製品を 10 倍に希釈し，塩分濃度が 0.4% となるように食塩（特級塩，株式会社ソルト関西）を添加した。60℃に温めて使用した。

#### 3) ウーロン茶

サントリーフーズ株式会社の 2 L ペットボトルの烏龍茶を購入し，使用した。

### (2) サンシオール類の分析

ヒドロキシ- $\alpha$ -サンシオール， $\alpha$ -サンシ奥ールの定量は，HPLC 法を用いた。装置は alliance 2695（Waters 社製）を用いた。分析カラムは ZORBAX Eclipse Plus C18 (4.6 mm×250 mm, 5  $\mu$ m, Agilent Technology 社製) を用いた。注入量は 5  $\mu$ L，カラム温度は 30℃とし，流速は 1 mL/min で行った。移動相は超純水 (A)，およびメタノール (B) を用い，グラジエント条件は A : B = 30 : 70 (0 min) → 30 : 70 (25 min) → 5 : 95 (25.5 min) → 5 : 95 (35.5 min) → 30 : 70 (45.5 min) とした。検出にはフォトダイオードアレイ検出器を用い，270 nm 波長で検出を行った。HPLC 法で分取精製したヒドロキシ- $\alpha$ -サンシオール， $\alpha$ -サンシオール（NMR により，純度は 99% 以上）を標品として用い，分離定量を行った。

### (3) 山椒の熱水抽出エキス入りウーロン茶の作成

未熟山椒および完熟山椒の，生の果実の冷凍品をそれぞれ使用した。種子を除いた果皮 10 g（乾物重量：未熟山椒 1.8g，完熟山椒 4.3g）を粉碎し，90 g の水を加えたものを 90℃の恒温槽で 1 時間静置抽出した。減圧濾過により，果皮を取り除き，液部を用いた。ヒドロキシ- $\alpha$ -サンシ奥ールの最終濃度が 1.5 ppm になるようにウーロン茶に添加した。評価にあたり，山椒の香りの影響を小さくす

るために、山椒と同じリナロールやゲラニオールを含む、ウーロン茶を使用した。

#### (4) 未熟/完熟山椒の熱水抽出エキスの官能評価試験 (VAS 法)

9名の健常な龍谷大学の学生ボランティア(20代の男性1名, 20代女性8名)を評価者として用いた。

山椒の熱水抽出エキス入りウーロン茶を一口(約20 mL)、口腔内全体で味わうように飲んだ後に、60℃のかつお出汁を一口(約20 mL)飲み、かつお出汁について、VAS法で7つの項目の評価を行った。かつお出汁は、口に入れた後、すぐに嚥下するように指示をした。評価項目は、第1章で述べた減塩により失われる「先味の強さ」、「味の厚み」、「後味の伸び」と、それらを総合的に判断した「全体的な味の濃さ」に加えて、減塩食で課題とされる「水っぽさのなさ」<sup>22)</sup>、「満足度」、および「おいしさ」を設定した。評価に当たり、評価者には事前に図2を示しながら、試験と同内容の訓練を実施し、各項目の認識を揃えた後に評価を行った。

山椒エキスを含まないウーロン茶をコントロールとした。コントロール、未熟山椒エキス入りウーロン茶、完熟山椒エキス入りウーロン茶をランダムな順で被験者に提示し、評価の前には、水で口を十分にすすぐ時間を設けた。評価には官能評価ソフトウェア FIZZ (ver.2.51 c 02, BIOSYSTEMS 社)を用いた。VASをタブレットの画面上に掲示し、VASの直線の左端を0、右端を100として、該当すると判断した線上の部位をチェックすることで、左端からの距離を数値として用いた。各評価項目の両端の基準は、左端/右端と表した場合、「先味の強さ」を弱い/強い、「味の厚み」を薄っぺらい/厚みがある、「後味の伸び」を伸びがない/伸びがある、「全体的な味の濃さ」を薄い/濃い、「水っぽさのなさ」を水っぽい/水っぽくない、「満足度」を満足感がない/満足感がある、および「おいしさ」をおいしくない/おいしいとした。

また、本論文では、山椒エキスを事前に口腔内に含み、その後でかつお出汁を評価する方法について記載しているが、山椒エキスを直接、かつお出汁に添加しても、同様の効果が得られている(データ非提示)。しかし、未熟山椒と完熟山椒で味と香りの質が異なるため、味の増強効果のみを厳密に比較することが難しかった。そのため、山椒の味と香りの影響を評価時になるべく排除できる、今回の方法について記載した。

#### (5) 未熟/完熟山椒の熱水抽出エキスの官能評価試験 (TI 法)

TI (Time Intensity) 法は、一つの感覚特性が時間経過に伴ってどのように変化

するかを評価する手法であり、刻々と変化する特徴をリアルタイムに測定し、グラフ化して比較することができる<sup>23, 24)</sup>。

VAS 法と同じく 9 名の健常な龍谷大学の学生ボランティアを評価者として用いた。

ウーロン茶を一口（約 20 mL）、口腔内全体で味わうように飲んだ後に、60°C のかつお出汁を一口（約 20 mL）飲み、かつお出汁の味の濃さについて TI 法で味を感じなくなるまで評価し、これをコントロールとした。次に、未熟山椒もしくは完熟山椒エキス入りのウーロン茶を一口（約 20 mL）口腔内全体で味わうように飲んだ後に、かつお出汁を一口（約 20 mL）飲み、コントロールと比較して相対的にかつお出汁の味の濃さについて評価を行った。かつお出汁は、口に入れた後、すぐに嚥下するように指示をした。

コントロールについては開示し、未熟山椒エキス、完熟山椒エキスは非開示でコントロールに引き続いてランダムな順で被験者に提示し、評価の前には、水で口を十分にすすぐ時間を設けた。評価に当たり、事前に試験と同内容の訓練を数回実施し、TI 法を習熟した後で評価を行った。本試験は、コントロール、未熟山椒エキス、完熟山椒エキスの評価を 1 セットとして、30 分以上の時間を空けて、2 セット実施した。評価および各パラメーター数値の算出には、官能評価ソフトウェア FIZZ を用いて行った（図 5）。各パラメーター数値は、図 6 に示す様に、最大強度、開始から最高強度に達するまでの最大の傾き（増加時の最大の傾き）、最高強度に達してから終了までの最大の傾き（減少時の最大の傾き）、面積、開始から最高強度に達するまでの面積（増加時の面積）、最高強度に達してから終了までの面積（減少時の面積）、時間（秒）、開始から最高強度に達するまでの継続時間（増加時の継続時間）（秒）、最高強度に達してから終了までの継続時間（減少時の継続時間）（秒）を算出した。



まず、お茶をゆっくり口全体で味わいながら飲んでください。

次に、サンプル（かつお出汁）を口にして、ラインスケールの左端をクリックしてください。

そのあと、感じる『味の濃さ』の強度に関して、カーソルを動かしてください。

何も感じなくなったとき、一番左にカーソルを移動してください。

味の濃さ

弱い |-----| 強い

243

次頁

図 5. 官能評価ソフトウェア FIZZ（上）と TI 法評価時の画面（下）

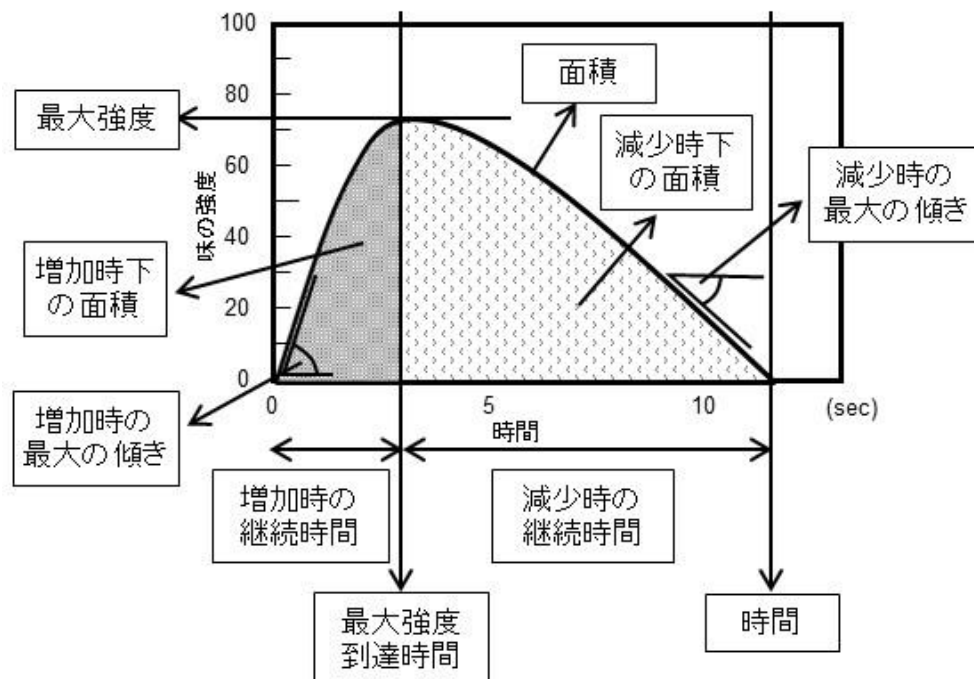


図 6. TI 曲線と各パラメーター

## (6) 統計処理

統計解析には Microsoft Excel, および SPSS を用いた。VAS 法の統計解析には Scheffe の多重比較検定, TI 法で得られたパラメーターの数値の統計解析には対応のある  $t$  検定を行った。

## (7) 倫理的配慮

山椒の熱水抽出エキスの官能評価試験は、龍谷大学「人を対象とした研究に関する倫理委員会」の承認（承認番号 2015-04）を得て行った。官能評価試験の結果の数値データは、ID 番号を付して評価者の氏名等個人情報情報は削除し、統計解析に供した。

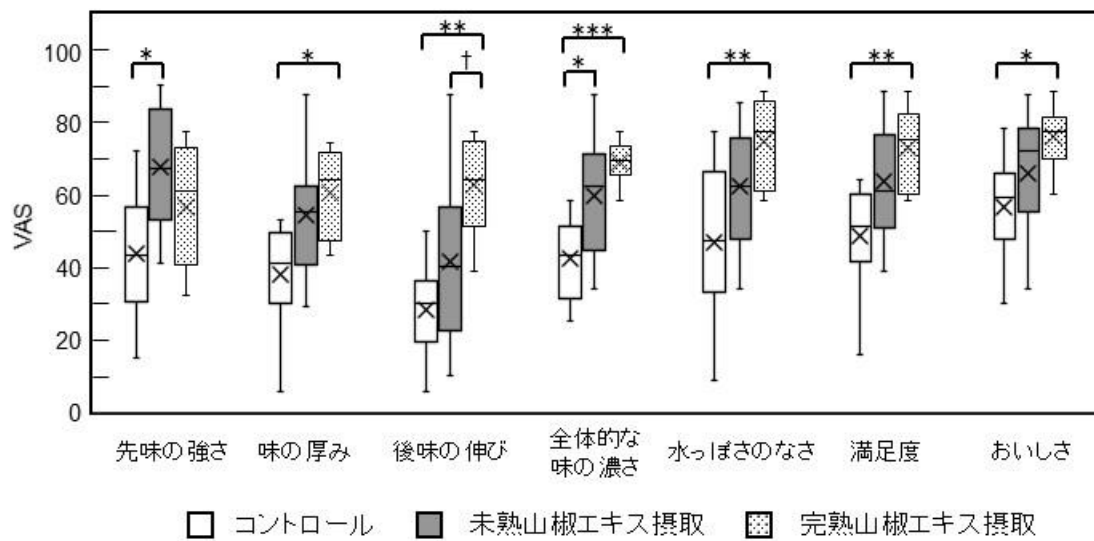
## 2.3 結果および考察

### (1) 山椒の熱水抽出エキスのサンショール類の分析

得られた未熟および完熟山椒の熱水抽出エキス中のヒドロキシ- $\alpha$ -サンショール濃度、 $\alpha$ -サンショール濃度をそれぞれ3回 HPLC で測定した。未熟山椒の熱水抽出エキス中のヒドロキシ- $\alpha$ -サンショール濃度は 21.1 ppm,  $\alpha$ -サンショール濃度は 1.3 ppm であり、完熟山椒の熱水抽出エキス中のヒドロキシ- $\alpha$ -サンショール濃度は 39.5 ppm,  $\alpha$ -サンショール濃度は 1.1 ppm であった。両エキスともに試験液のヒドロキシ- $\alpha$ -サンショールの濃度が 1.5 ppm になるように、未熟山椒の熱水抽出エキスを 7.0%, 完熟山椒の熱水抽出エキスを 3.8%, ウーロン茶に添加した。また、この時の  $\alpha$ -サンショールの濃度は、未熟山椒エキスが 0.09 ppm, 完熟山椒エキスが 0.04 ppm であった。

### (2) 熟度が異なる山椒の熱水抽出エキスの官能評価結果 (VAS)

第1章にも記載したが、食品における食塩の効果は、単なる塩味の付与だけではなく、風味全体の強度に影響している。減塩により、先味の強さ、味の厚み、後味の伸びが失われることが、食品のおいしさや満足度の低下に影響すると考えられる (図2)。本研究では、塩分控えめのかつお出汁を用いて官能評価試験を行い、塩味増強効果があると報告されている山椒エキスを、どのような味の増強効果があるかを調べた。



<箱ひげ図の見方>



図 7. 未熟/完熟山椒エキス摂取時のかつお出汁の官能評価

n=9, \*\*\* $p<0.005$ , \*\* $p<0.01$ , \* $p<0.05$ , † $p=0.054$

(Scheffe の多重比較検定)。

未熟山椒エキスと完熟山椒エキスはともに、山椒エキス添加無しのコントロールに比べて有意にかつお出汁の味が濃く感じられた。しかし、その感じ方は熟度によって異なり、コントロールに比べて、未熟山椒エキスは先味が強く感じられたのに対し、完熟山椒エキスは味の厚みと後味の伸びが強く感じられるという結果になった。また、未熟山椒エキスと完熟山椒エキスの間で、完熟山椒エキスの方が後味の伸びが強いという傾向が見られた ( $p=0.054$ )。

また、完熟山椒エキスにおいては、水っぽさも改善され、満足度やおいしさの評価もコントロールと比べて有意に高いことがわかった。この結果から、完熟山椒エキスの、味の中後半の持続性を高める効果が減塩食における満足度やおい

しさの改善につながる可能性が考えられた（図 7）。

### (3) TI 法による未熟/完熟山椒エキスの味の増強効果の違い

未熟山椒エキスと完熟山椒エキスの、かつお出汁に及ぼす味の増強効果の違いを TI 法により経時的に比較した。

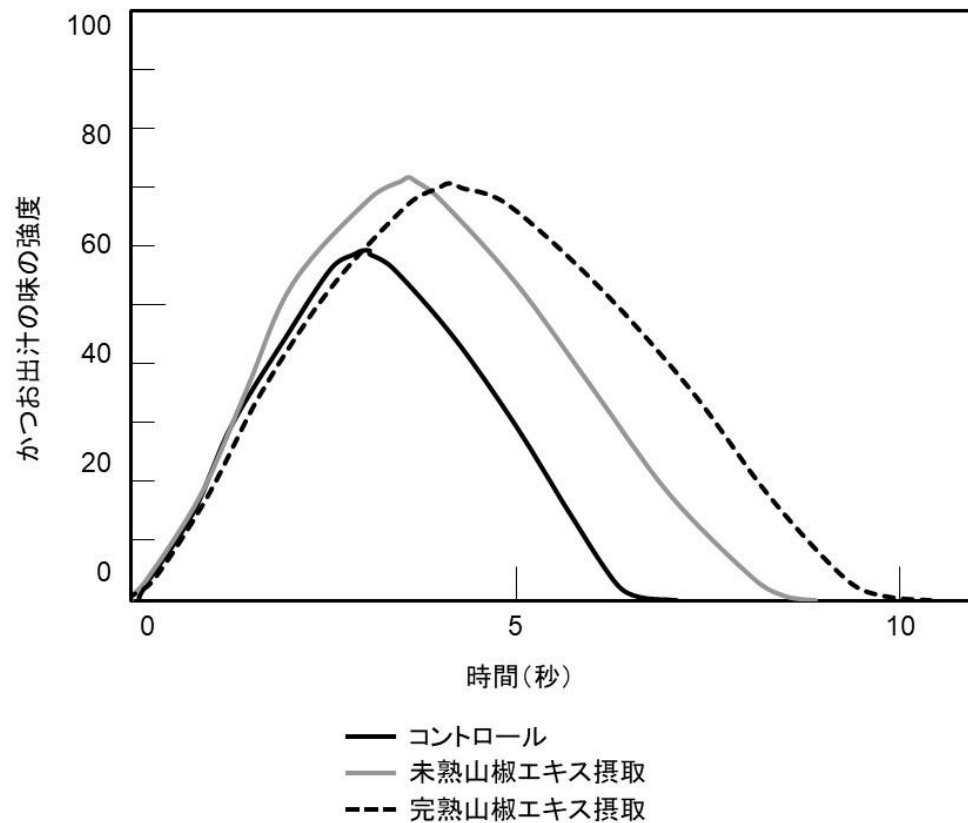


図 8. 未熟/完熟山椒エキス摂取時の、かつお出汁の味の濃さの TI 平均曲線  
n=9, 繰り返し 2 回。

表 1. 未熟/完熟山椒エキス摂取時の，かつおだしの味の濃さの TI 平均曲線から得られたパラメーター値

|                 | 最大<br>強度 | 増加時の<br>最大傾き | 減少時の<br>最大傾き | 面積    | 増加時の<br>面積 | 減少時の<br>面積 | 時間<br>(秒) | 増加時の<br>継続時間<br>(秒) | 減少時の<br>継続時間<br>(秒) |
|-----------------|----------|--------------|--------------|-------|------------|------------|-----------|---------------------|---------------------|
| コントロール<br>(参考値) | 59.3     | 31.9         | 27.9         | 227.6 | 104.9      | 118.9      | 7.1       | 2.9                 | 4.1                 |
| 未熟山椒エキス         | 71.8     | 33.8         | 28.4         | 352.9 | 157.2      | 195.9      | 8.9       | 3.6                 | 5.3                 |
| 完熟山椒エキス         | 70.7     | 28.8         | 25.0         | 385.2 | 163.1      | 212.9      | 10.4      | 4.1                 | 6.2                 |

未熟山椒エキスと完熟山椒エキスの値において対応のある  $t$  検定を実施した。  
 $n=9$ ，繰り返し 2 回， $*p<0.05$ ， $†p=0.068$ 。

未熟山椒エキスのグラフは，完熟山椒エキスに比べて，増加時の傾きが大きい傾向が見られた ( $p=0.068$ )。一方，完熟山椒エキスのグラフは，未熟山椒エキスに比べて，味を感じている時間が有意に長かった。TI 法の結果からも，未熟山椒エキスと完熟山椒エキスの味の増強効果は異なり，未熟山椒エキスは先味の強さ，完熟山椒エキスは味の持続性を高める可能性が示唆された。

本試験では，両エキスの，ヒドロキシ- $\alpha$ -サンショールの濃度を 1.5 ppm に揃えて評価を実施した。 $\alpha$ -サンショールの濃度は，未熟山椒エキスでは 0.09 ppm，完熟山椒エキスでは 0.04 ppm と若干異なるため，それが両エキスの味の増強効果の違いに影響を及ぼしている可能性が考えられた。しかし， $\alpha$ -サンショールはヒドロキシ- $\alpha$ -サンショールに比べて少量であることから，サンショール類以外にも，味の増強効果に有効な成分の存在が示唆された (図 8，表 1)。

## 第3章

### 未熟および完熟山椒エキス分画物の味の増強効果の比較

#### 3.1 研究目的

未熟山椒エキスと完熟山椒エキスはともに、塩分が低いかつお出汁の味を強める効果があることがわかり、減塩食のおいしさ向上に役立つ可能性が示唆された。しかし、両エキスの味の増強効果は異なり、先味を強める未熟山椒エキスに対し、完熟山椒エキスは、味の持続性を高めることがわかった。完熟山椒エキスは、水っぽさのなさ、満足度やおいしさの向上にも効果的であったことから、完熟山椒に特有の味の持続性を高める効果は、減塩食における満足度やおいしさの改善につながる可能性が考えられた。

そこで、未熟山椒エキスと完熟山椒エキスの効果の差異がどの成分の寄与によるものなのかを調べるために、両エキスを中圧分取カラムにより分画し、TI法による官能評価試験を実施した。

## 3.2 材料と方法

### (1) 実験材料

#### 1) 山椒

和歌山産のブドウ山椒 (*Zanthoxylum piperitum*) を使用した。5～8 月に採取された果実が緑色の未熟山椒、9～10 月に採取された果実が赤色の完熟山椒の、果皮の粉碎品をかんじゃ山椒園より購入し、使用した。

#### 2) かつお出汁

山椒の味の増強効果を測定するための評価食として、均一でシンプルな風味のかつお出汁を用いた。濃縮液体タイプの、株式会社マルハチ村松の濃厚だし（かつおぶし）を購入し、使用した。超純水製造装置 (Milli-Q, メルク株式会社製) で作製した純水で上記の製品を 10 倍に希釈し、塩分濃度が 0.4% となるように食塩（特級塩, 株式会社ソルト関西）を添加した。60℃に温めて使用した。

### (2) 山椒エキスの分画物の作製とスクリーニング

未熟山椒および完熟山椒の、果皮の粉碎品をそれぞれ使用した。山椒エキスの抽出方法は既存の特許を参考にした<sup>25)</sup>。山椒の粉碎品 5.0 g（乾物重量：未熟山椒 4.5 g, 完熟山椒 4.5 g）に 95 g の 42.1% エタノール水溶液を加えて、スターラーで攪拌しながら 23℃で 1 時間抽出した後、減圧濾過により、果皮を取り除き、液体を用いた。分画には中圧分取液体クロマトグラフ YFLC W-Prep 2XY（山善製）を用いた。抽出した未熟、完熟山椒エキスをインジェクトカラム ODS（26 mm×80 mm, 山善製）に 5 mL 注入し、分取を行った。分取用カラムには ODS-SM-50C（山善製）を用い、流速は 30 mL/min で行った。移動相は超純水 (A), およびメタノール (B) を用い、グラジエント条件は A:B=40:60 (0 min) →40:60 (10 min) →5:95 (40 min) →5:95 (70 min) →40:60 (70.1 min) →40:60 (80 min) とした。検出には UV 検出器を用い、検出波長は 270 nm とした。得られたピークを区画（フラクション 1～6）に分けて分取を行い（図 9）、各分画液をナスフラスコに回収後、エバポレーターにて分画液を乾固した。各乾固物の回収量の比が水溶液中の溶解量の比と一致するように、それぞれの水溶液を作製した。なお、分画物は、ほぼ無味無臭でマスキングの必要がなかったため、ウーロン茶ではなく水に添加して評価した。抽出・分画・精製の工程で添加した有害物質（メタノール等）が除去できているかどうか、また、分画物中に有害物質が含まれていないかの確認は NMR, LC-MS を用いて行った。

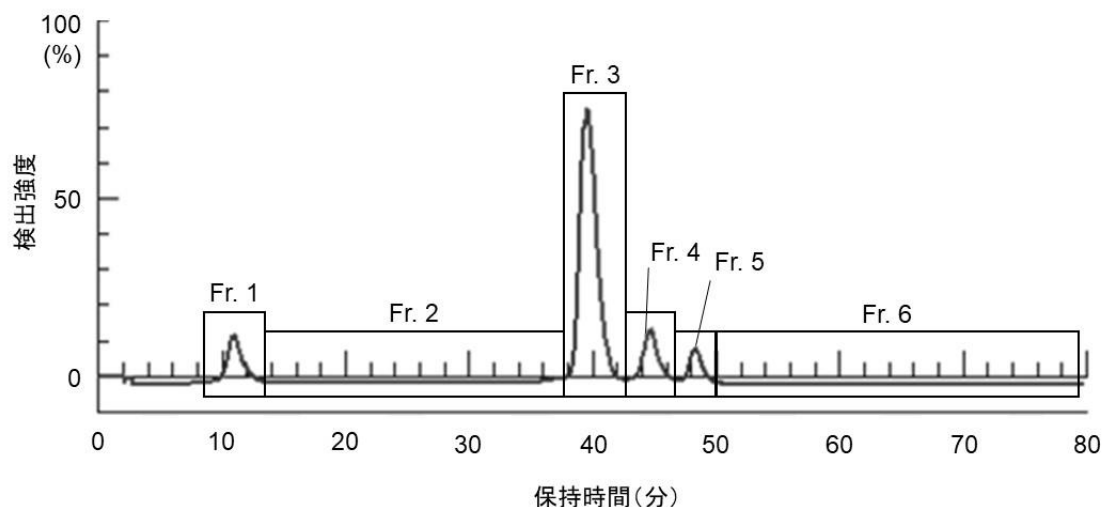


図9. 山椒エキスを中圧分取クロマトグラフィーで分取した際のクロマトグラフ  
検出波長は 270 nm。

また、TI 法に進む前に、分画した各フラクションについて、どのフラクションに味の増強効果に寄与する成分が含まれているかのスクリーニングを実施した。各フラクションの乾固物を水に再溶解させたものを一口（約 20 mL）飲んだ後に、60℃のかつお出汁を一口（約 20 mL）飲み、かつお出汁の味の増強効果の有無と、効果がある場合は、先味の強さ/味の厚み/後味の伸びのどこに作用しているかを評価した。

スクリーニング結果にもとづき、フラクション 2～5 を用いて 3 種類の溶液を調製し、TI 法に供した。TI 法に用いた未熟山椒および完熟山椒エキスの分画物の濃度は、各乾固物の回収量の比が水溶液中の溶解量の比と一致するように、フラクション 2 を 0.3 ppm，フラクション 3～5 の混合物を 1.2 ppm，フラクション 2～5 の混合物を 1.5 ppm に調製した。

### (3) 未熟/完熟山椒エキスの分画物の官能評価試験（TI 法）

ハウス食品株式会社の健常な研究員 8 名（20 代男性 4 名，20 代女性 4 名）を評価者として用いた。

水を一口（約 20 mL），口腔内全体で味わうように飲んだ後に，60℃のかつお出汁を一口（約 20 mL）飲み，かつお出汁の味の濃さについて TI 法で味を感じなくなるまで評価し，これをコントロールとした。次に，水で口をすすいだ後に，

未熟山椒もしくは完熟山椒エキスの分画物入りの水を一口（約 20 mL）、口腔内全体で味わうように飲んだ後に、かつお出汁を一口（約 20 mL）飲み、かつお出汁の味の濃さについて、コントロールと比較して相対的に評価を行った。かつお出汁は、口に入れた後、すぐに嚥下するように指示をした。コントロールについては開示し、未熟山椒エキス分画物、完熟山椒エキス分画物は非開示でランダムな順で被験者に提示し、評価の前には、水で口を十分にすすぐ時間を設けた。評価に当たり、事前に山椒エキスをを用いて、第 2 章 2.2 (5) に示す方法と同内容の訓練を数回実施し、TI 法を習熟した後で評価を行った。本試験は、コントロール、未熟山椒エキス、完熟山椒エキスの評価を 1 セットとして、30 分以上の時間を空けて、2 セット実施した。評価および各パラメーター数値の算出には、官能評価ソフトウェア FIZZ を用いて行った。各パラメーター数値は、図 6 に示す様に、最大強度、開始から最高強度に達するまでの最大の傾き（増加時の最大の傾き）、最高強度に達してから終了までの最大の傾き（減少時の最大の傾き）、面積、開始から最高強度に達するまで面積（増加時の面積）、最高強度に達してから終了までの面積（減少時の面積）、時間（秒）、開始から最高強度に達するまでの継続時間（増加時の継続時間）（秒）、最高強度に達してから終了までの継続時間（減少時の継続時間）（秒）を算出した。

#### (4) LC-MS による分画物の分析

中圧分取液体クロマトグラフによって得られた未熟、完熟山椒の分画物の分析には LC-MS 装置を用いた。中圧分取液体クロマトグラフで得られた分画物を濃度が乾重量計算で 1000 ppm になるようにメタノールに溶解した。分画物溶解液を Millex-LG シリンジフィルター（0.2  $\mu$ m, メルク社製）で濾過後、分析に供した。LC 装置は Ultimate3000（Thermo Scientific 社製）を用いた。分析カラムは Unison-UK-C18（4.6 mm×250 mm, 5  $\mu$ m, Imtakt 社製）を用いた。カラム温度は 30°C とし、流速は 0.4 mL/min で行った。移動相は 0.1% ギ酸水溶液（A）、およびメタノール（B）を用い、グラジエント条件は A : B = 50 : 50（0 min）→ 50 : 50（8 min）→ 25 : 75（15 min）→ 25 : 75（35 min）→ 5 : 95（35.5 min）→ 5 : 95（45 min）→ 50 : 50（45.5 min）→ 50 : 50（60 min）とした。MS 装置は Q Exactive Focus Orbitrap LC-MS/MS System（Thermo Scientific 社製）を用いた。イオン化法は ESI 法を用い、イオン化モードはポジティブとした。ヒーター温度は 200°C とし、スプレー電圧は 3.5 kV とした。キャピラリー温度は 300°C、シースガスは 50 L/h, Auxiliary ガスは 15 L/h, コリジョンエネルギーは 35 eV とした。

## **(5) 統計処理**

統計解析には Microsoft Excel, および SPSS を用いた。TI 法で得られたパラメーターの数値の統計解析には対応のある  $t$  検定を行った。

## **(6) 倫理的配慮**

山椒エキスの分画物の官能評価試験は、倫理的・科学的観点から、本研究の有効性や安全性について、第三者の有識者による客観的な評価・承認を得て行った。また、被験者については、研究の趣旨、試験内容や方法等について十分に説明を行い、文書による同意を得た。

官能評価試験の結果の数値データは、ID 番号を付して評価者の氏名等個人情報 は削除し、統計解析に供した。

### 3.3 結果と考察

#### (1) 山椒エキスの分画物の作製とスクリーニング

分画物の作製にあたり、エキス中に成分をより高濃度に抽出するために、熱水抽出ではなく、エタノール抽出を採用した。完熟山椒のエタノール抽出エキスを、中圧分取クロマトグラフィーによってフラクション1～6（図9のFr. 1～Fr. 6）を分取した。TI法で評価を行う前に、4名のパネルで、塩分濃度0.4%のかつお出汁を用いて、完熟山椒エキスの各フラクションの味の増強効果の有無を評価した（表2）。

表2. 完熟山椒エキスの各フラクションの味の増強効果

| サンプル  | パネル1       | パネル2  | パネル3  | パネル4    |
|-------|------------|-------|-------|---------|
| Fr. 1 | なし         | なし    | なし    | なし      |
| Fr. 2 | 先味の強さ      | 後味の伸び | 後味の伸び | 後味の伸び   |
| Fr. 3 | なし         | なし    | 先味の強さ | 先味の強さ   |
| Fr. 4 | 味の厚み・後味の伸び | 先味の強さ | 先味の強さ | 先味の強さ   |
| Fr. 5 | 味の厚み・後味の伸び | 先味の強さ | 先味の強さ | 先味の強さ   |
| Fr. 6 | 後味の伸び      | なし    | なし    | 弱い先味の強さ |

フラクション2の乾固物を水に再溶解させたものを一口（約20 mL）摂取した後にかつお出汁を飲むと、分画前の完熟山椒エキスのように、かつお出汁の後味の伸びが強くなったと感じたパネルが多かった。一方、フラクション3, 4, 5の乾固物を水に再溶解させたものについては、かつお出汁の先味が強くなったと感じたパネルが多かった。また、フラクション1には、味の増強効果を感じたパネルはおらず、フラクション6については、効果を感じなかったものが半数であり、効果を感じたものも先味と後味で意見が割れた。

そこで、フラクション2の後味の伸びが、完熟山椒に特有かどうかを調べるために、3名のパネルにより、未熟/完熟山椒エキスのフラクション2について、塩分濃度0.4%のかつお出汁を用いて、追加で評価を実施した（表3）。

表 3. 未熟/完熟山椒エキスのフラクション 2 の味の増強効果

|               | パネル1  | パネル2  | パネル3  |
|---------------|-------|-------|-------|
| 未熟山椒エキスのFr. 2 | なし    | なし    | なし    |
| 完熟山椒エキスのFr. 2 | 後味の伸び | 後味の伸び | 後味の伸び |

完熟山椒エキス分画物のフラクション 2 の乾固物を水に再溶解させたものを一口（約 20 mL）摂取した後にかつお出汁を飲むと、表 2 の結果と同様に、かつお出汁の後味の伸びが強くなったと感じたパネルが多かったが、未熟山椒エキスではそのような効果は見られなかった。

また、前述の中圧分取 HPLC において標準物質を用いた検討を行ったところ、フラクション 3 にはヒドロキシ- $\alpha$ -サンショール、フラクション 4 には  $\alpha$ -サンショールが含まれていることが分かった。またフラクション 5 は、LC-MS で分析した際に、 $m/z=274.21655$  の分子イオンが検出され、組成式は  $C_{18}H_{28}NO$  と計算されたことから  $C_{18}H_{27}NO$  の  $\gamma$ -サンショールではないかと考えられる。

以上の、スクリーニング結果と HPLC および LC-MS の分析結果により、フラクション 2 に含まれる成分が、完熟山椒エキスに見られた味の持続性に関与していると考えられた。また、フラクション 3~5 は、両エキスに共通して含まれるサンショール類であり、先味の強さに関与していると考えられた。完熟山椒エキスにもサンショール類が含まれているが、未熟山椒エキスよりも先味の強さが弱い原因として、フラクション 2 が影響しているのではないかと推察される。そこで、未熟/完熟山椒エキスのそれぞれについて、フラクション 3, 4, 5 の混合物（サンショール類）と、フラクション 2, また、フラクション 2~5 の混合物について TI 法で評価を行い、どのような味の増強効果の違いが生じるかを検証した。

## (2) TI 法による、未熟/完熟山椒エキスの分画物の効果の違い

未熟山椒と完熟山椒エキスの分画物に、どのような味の増強効果があるかを TI 法により測定した（図 10, 表 4）。

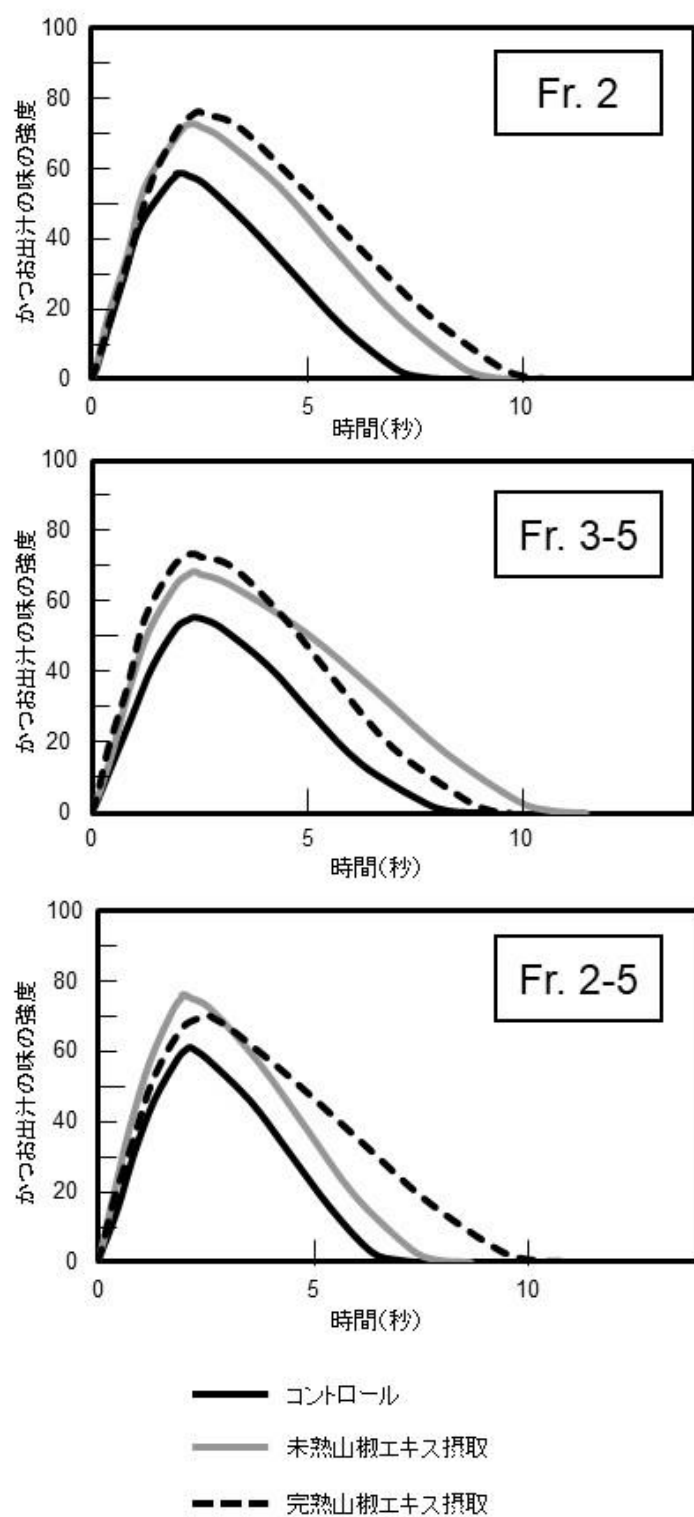


図 10. 未熟/完熟山椒エキスの分画物摂取時の、かつお出汁の味の濃さの TI 平均曲線  
n=8, 繰り返し 2 回。

表 4. 未熟/完熟山椒エキスの分画物摂取時の、かつおだしの味の濃さの TI 平均曲線から得られたパラメーター値

|                 | 最大強度 | 増加時の最大傾き | 減少時の最大傾き | 面積    | 増加時の面積 | 減少時の面積 | 時間(秒) | 増加時の継続時間(秒) | 減少時の継続時間(秒) |
|-----------------|------|----------|----------|-------|--------|--------|-------|-------------|-------------|
| コントロール<br>(参考値) | 58.1 | 42.7     | 20.3     | 251.4 | 72.1   | 172.9  | 8.9   | 2.1         | 6.6         |
| Fr. 2 未熟山椒エキス   | 72.5 | 50.1     | 25.2     | 394.0 | 101.9  | 277.7  | 10.6  | 2.4         | 8.1         |
| 完熟山椒エキス         | 75.8 | 50.8     | 22.7     | 443.3 | 116.4  | 319.2  | 11.5  | 2.6         | 8.8         |
| コントロール<br>(参考値) | 55.5 | 35.3     | 20.0     | 265.0 | 84.5   | 173.6  | 9.7   | 2.5         | 7.1         |
| Fr.3-5 未熟山椒エキス  | 68.6 | 46.3     | 18.4     | 438.3 | 104.2  | 329.1  | 12.3  | 2.5         | 9.8         |
| 完熟山椒エキス         | 73.8 | 51.8     | 24.7     | 411.6 | 122.1  | 279.7  | 10.4  | 2.4         | 7.9         |
| コントロール<br>(参考値) | 60.9 | 42.4     | 26.2     | 232.9 | 82.5   | 150.6  | 8.1   | 2.3         | 5.8         |
| Fr. 2-5 未熟山椒エキス | 75.8 | 54.9     | 26.7     | 340.6 | 98.2   | 237.9  | 9.3   | 2.1         | 7.1         |
| 完熟山椒エキス         | 69.8 | 48.3     | 18.2     | 415.6 | 111.2  | 291.1  | 11.9  | 2.6         | 9.2         |

各フラクション間は独立であり、フラクション内の未熟山椒エキス分画物と完熟山椒エキス分画物の値において対応のある  $t$  検定を実施した。

n=8, 繰り返し 2 回, \*\*\* $p$ <0.005, \*\* $p$ <0.01, \* $p$ <0.05, † $p$ =0.068。

フラクション 2 では、未熟山椒エキス分画物と完熟山椒エキス分画物の間で統計的有意差は見られなかった。しかし、完熟山椒エキス分画物の方が味を感じている時間は長く、事前のスクリーニング評価では、未熟および完熟山椒エキス分画物において味の増強効果の差を感じられたことから、フラクション 2 には、後味の伸びを強める効果をもつ可能性が示唆された。

フラクション 3～5 の混合物（サンショール類）では、未熟山椒エキス分画物のグラフは、完熟山椒エキス分画物に比べて、減少が緩やかであり、味を感じている時間が長かった。加えて、減少時の面積も有意に大きく、未熟山椒エキス分画物の方が味の持続性を高めることがわかった。これは、分画前のエキスで見られた、未熟山椒エキスが先味の強さ、完熟山椒エキスが味の持続性を高めるという結果に反するものとなった。

フラクション 2～5 の混合物では、未熟山椒エキス分画物のグラフは、完熟山

椒エキス分画物に比べて、増加時の傾きが大きい傾向が見られた ( $p=0.068$ )。一方、完熟山椒エキス分画物のグラフは、未熟山椒エキスに比べて、減少が緩やかであり、味を感じている時間も有意に長かった。これは、分画前のエキスでの評価と同傾向であった。また、完熟山椒エキス分画物は、時間だけでなく、面積も有意に大きかったことから、未熟山椒エキス分画物に比べて、味を強く、長く感じさせる効果がある可能性が示唆された。

フラクション 2, 3~5 の分画物は、分画前のエタノール抽出エキスと異なる味の増強効果を発揮したことから、未熟および完熟山椒エキスがもつ味の増強効果はフラクション 2 とフラクション 3~5 に含まれる成分が相乗的・相加的に作用することで発揮されるものと考えられた。特に、完熟山椒 のフラクション 2 の成分には、フラクション 3~5 に含まれるサンシオール類の味の増強効果の持続性を高める効果があるのではないかと考えられた。事前のスクリーニング結果では、完熟山椒エキスのフラクション 2 において後味の伸びを感じ、また、TI 法のフラクション 2 の結果でも未熟よりも完熟の方が味を感じている時間が長かったことから、完熟山椒エキスのフラクション 2 には、単独でも、後味を伸ばす効果がある可能性は考えられる。後味を伸ばす効果を有するフラクション 2 と、味の強度を上げるサンシオール類とが合わさることで、味をより強く、長く感じさせ、味の持続性を増す効果を生み出していると推測する。

フラクション 3~5 の混合物の結果が、エキスの結果と逆転した理由については、サンシオール類の濃度比率の差が影響しているのではないかと考えられる。 $\alpha$ -サンシオールや  $\gamma$ -サンシオールはヒドロキシ- $\alpha$ -サンシオールに比べて、口にした時にしびれを感じるのが遅く、かつ長く引く傾向があると報告されている<sup>26)</sup>。各化合物の LogP の値は、 $\alpha$ -サンシオール 4.752,  $\gamma$ -サンシオール 5.446 に対し、ヒドロキシ- $\alpha$ -サンシオール 3.842 である<sup>27)</sup>。LogP の値は化合物の疎水性を表す指標であり、一般的に値が大きくなるほど疎水性が高くなる。上記の値から  $\alpha$ -サンシオール,  $\gamma$ -サンシオールはヒドロキシ- $\alpha$ -サンシオールと比べて疎水性が高いことが考えられる。疎水性が高い故にこれら 2 成分は口腔内の受容体への親和性が高く、また口腔内の水分に溶解しにくいため、成分が口腔内から体内へ流れ出にくくなると推測される。今回の分画物中のサンシオール類の濃度を、HPLC により分析したところ、未熟山椒は、完熟山椒に比べて、ヒドロキシ- $\alpha$ -サンシオールの濃度はほぼ同等であったのに対し、 $\alpha$ -サンシオールの濃度が 1.6 倍、 $\gamma$ -サンシオールの濃度が 1.4 倍高かった。LogP が大きい  $\alpha$ -サンシオールと  $\gamma$ -サンシオールの濃度が、完熟山椒エキス分画物よりも

未熟山椒エキス分画物の方が高かったことから、未熟山椒エキス分画物の方が、サンシオール類が受容体に結合している時間が長くなり、その結果、味の持続性が高くなったのではないかと考察される。しかし、フラクション 3~5 の混合物にフラクション 2 を加えることで、完熟山椒の方が持続性が高くなったことから、フラクション 2 には、 $\alpha$ -サンシオールや  $\gamma$ -サンシオールよりも味の持続性を高める成分が存在すると考えられる。

## 第4章

### 完熟山椒エキスの有効成分の同定

#### 4.1 研究目的

完熟山椒エキスの味の持続性を高める効果は、フラクション2に含まれる成分が影響している可能性が示唆された。フラクション2に含まれる成分は、サンショール類の味の増強効果の持続性を高め、味を強く、長く感じさせる効果があり、減塩食のおいしさ向上に役立つ可能性がある。しかし、第3章の中圧分取クロマトグラフィーで分取した際のクロマトグラフ（波長 270 nm）において、フラクション2にはピークを検出できなかったため、成分を絞り込むことができなかった。

そこで、完熟山椒エキスの特有の成分を同定するために、フラクション2を更に細かく分画して官能評価試験を行った。また、LC-MSにより、未熟山椒エキスと完熟山椒エキス間の成分を比較し、寄与成分の絞り込みを行った。

## 4.2 材料と方法

### (1) 実験材料

#### 1) 山椒

和歌山産のブドウ山椒 (*Zanthoxylum piperitum*) を使用した。5～8 月に採取された果実が緑色の未熟山椒、9～10 月に採取された果実が赤色の完熟山椒の、果皮の粉碎品をかんじゃ山椒園より購入し、使用した。

#### 2) かつお出汁

山椒の味の増強効果を測定するための評価食として、均一でシンプルな風味のかつお出汁を用いた。濃縮液体タイプの、株式会社マルハチ村松の濃厚だし(かつおぶし)を購入し、使用した。純水製造装置 (Milli-Q, メルク株式会社製) で作製した純水で上記の製品を 10 倍に希釈し、塩分濃度が 0.4% となるように食塩 (特級塩, 株式会社ソルト関西) を添加した。60℃ に温めて使用した。

### (2) 完熟山椒エキスの分画物の作製

完熟山椒の果皮の粉碎品を使用した。山椒エキスの抽出方法は既存の特許を参考にした<sup>25)</sup>。山椒の粉碎品 5.0 g (乾物重量: 未熟山椒 4.5 g, 完熟山椒 4.5 g) に 95 g の 42.1% エタノール水溶液を加えて、スターラーで攪拌しながら 23℃ で 1 時間抽出した後、減圧濾過により、果皮を取り除き、液体を用いた。分画には中圧分取液体クロマトグラフ YFLC W-Prep 2XY (山善製) を用いた。抽出した未熟、完熟山椒エキスをインジェクトカラム ODS (26 mm×80 mm, 山善製) に 5 mL 注入し、分取を行った。分取用カラムには ODS-SM-50C (山善製) を用い、流速は 30 mL/min で行った。移動相は超純水 (A), およびメタノール (B) を用い、グラジエント条件は A : B = 40 : 60 (0 min) → 40 : 60 (10 min) → 5 : 95 (40 min) → 5 : 95 (70 min) → 40 : 60 (70.1 min) → 40 : 60 (80 min) とした。検出には UV 検出器を用い、検出波長は 270 nm とした。得られたピークから第 3 章の図 9 に示すフラクション 2 について、図 11 に示す様に更に 5 つに分画して採取を行った。各分画液をナスフラスコに回収後、エバポレーターにて分画液を乾固した。抽出・分画・精製の工程で添加した有害物質 (メタノール等) が除去できているかどうか、また、分画物中に有害物質が含まれていないかの確認は NMR, LC-MS を用いて行った。

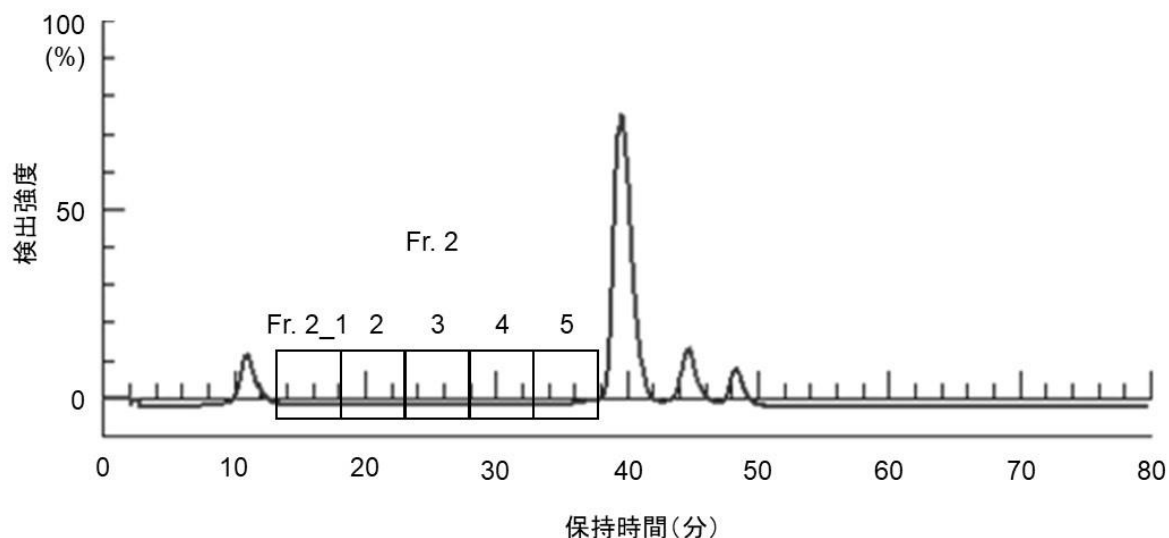


図 11. 完熟山椒エキスを中圧分取クロマトグラフィーで、再分画した際の  
クロマトグラフ  
検出波長は 270 nm。

### (3) LC-MS による分画物の分析

中圧分取液体クロマトグラフによって得られた未熟，完熟山椒の分画物の分析には LC-MS 装置を用いた。中圧分取液体クロマトグラフで得られた分画物を濃度が乾重量計算で 1000 ppm になるようにメタノールに溶解した。分画物溶解液を Millex-LG シリンジフィルター (0.2  $\mu\text{m}$ ，メルク社製) で濾過後，分析に供した。LC 装置は Ultimate3000 (Thermo Scientific 社製) を用いた。分析カラムは Unison-UK-C18 (4.6 mm $\times$ 250 mm, 5  $\mu\text{m}$ ，Imtakt 社製) を用いた。カラム温度は 30 $^{\circ}\text{C}$ とし，流速は 0.4 mL/min で行った。移動相は 0.1%ギ酸水溶液 (A)，およびメタノール (B) を用い，グラジエント条件は A : B = 50 : 50 (0 min)  $\rightarrow$  50 : 50 (8 min)  $\rightarrow$  25 : 75 (15 min)  $\rightarrow$  25 : 75 (35 min)  $\rightarrow$  5 : 95 (35.5 min)  $\rightarrow$  5 : 95 (45 min)  $\rightarrow$  50 : 50 (45.5 min)  $\rightarrow$  50 : 50 (60 min) とした。MS 装置は Q Exactive Focus Orbitrap LC-MS/MS System (Thermo Scientific 社製) を用いた。イオン化法は ESI 法を用い，イオン化モードはポジティブとした。ヒーター温度は 200 $^{\circ}\text{C}$ とし，スプレー電圧は 3.5 kV とした。キャピラリー温度は 300 $^{\circ}\text{C}$ ，シースガスは 50 L/h，Auxiliary ガスは 15 L/h，コリジョンエネルギーは 35 eV とした。

## 4.3 結果と考察

### (1) 完熟山椒エキスのフラクション2の官能評価試験とLC-MS分析

完熟山椒のエタノール抽出エキスを、官能評価用中圧分取クロマトグラフィーによってフラクション2を更に5つに分けて分画し、分取した(図11)。3名のパネルで、塩分濃度0.4%のかつお出汁を用いて、完熟山椒エキスの各フラクションの味の増強効果の有無を評価した(表5)。

表5. 完熟山椒エキスのフラクション2の再分画物の味の増強効果

|         | パネル1  | パネル2  | パネル3  |
|---------|-------|-------|-------|
| Fr. 2_1 | なし    | なし    | なし    |
| Fr. 2_2 | 後味の伸び | 後味の伸び | 後味の伸び |
| Fr. 2_3 | 後味の伸び | 後味の伸び | 後味の伸び |
| Fr. 2_4 | なし    | なし    | なし    |
| Fr. 2_5 | なし    | なし    | なし    |

フラクション2\_2と2\_3において、完熟山椒エキスと同様の効果である、後味の伸びを感じられた。よって、寄与成分はフラクション2\_2と2\_3に含まれている可能性が示唆された。

フラクション2をLC-MSで分析した結果を図12に示す。官能評価の結果より、寄与成分はLC-MSのクロマトグラフの10～30分辺りのピーク(図12の赤丸で示した部分)である可能性が高いことが分かった。

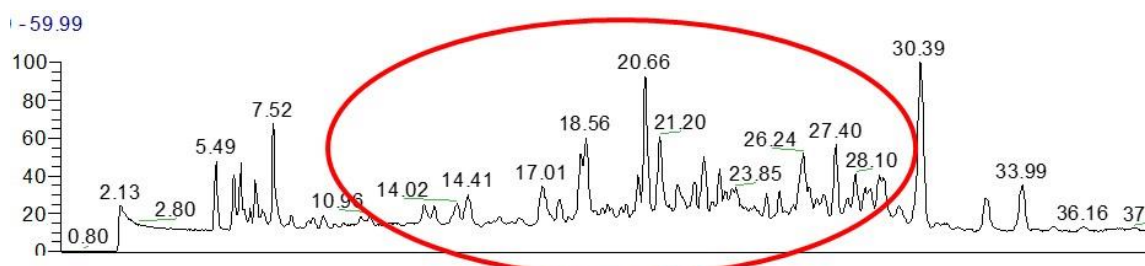


図12. 完熟山椒エキスのフラクション2のLC-MSのクロマトグラフ

## (2) 未熟/完熟山椒エキスの LC-MS 分析

未熟および完熟山椒エキスのフラクション 2 を LC-MS に供し、得られた成分の判別分析を行った結果を図 13 に示す。グラフの中心から右上方向に行くほど未熟山椒エキスの成分であり、左下方向に行くほど完熟山椒に特有の成分であることを示す。

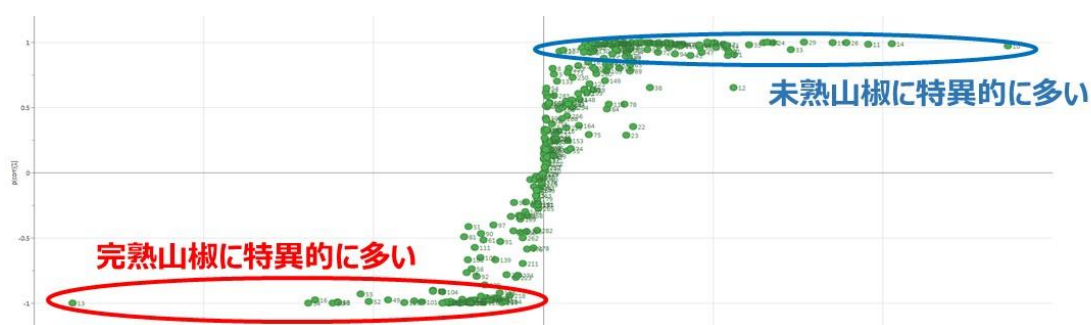


図 13. 未熟/完熟山椒エキスの LC-MS で得られた成分の判別分析

成分比較の結果、完熟山椒に特異的に多い成分が多数見つかった。

そこでフラクション 2\_2 と 2\_3 のみに共通して存在し、かつ完熟山椒に特異的に多い成分を調べたところ (図 14)、保持時間 20.96 分に検出される化合物 A ( $C_{10}H_{18}O_2$ )、および保持時間 20.86 分に検出される化合物 B ( $C_{10}H_{16}O_2$ ) の 2 つの成分である可能性が示唆された (表 6)。

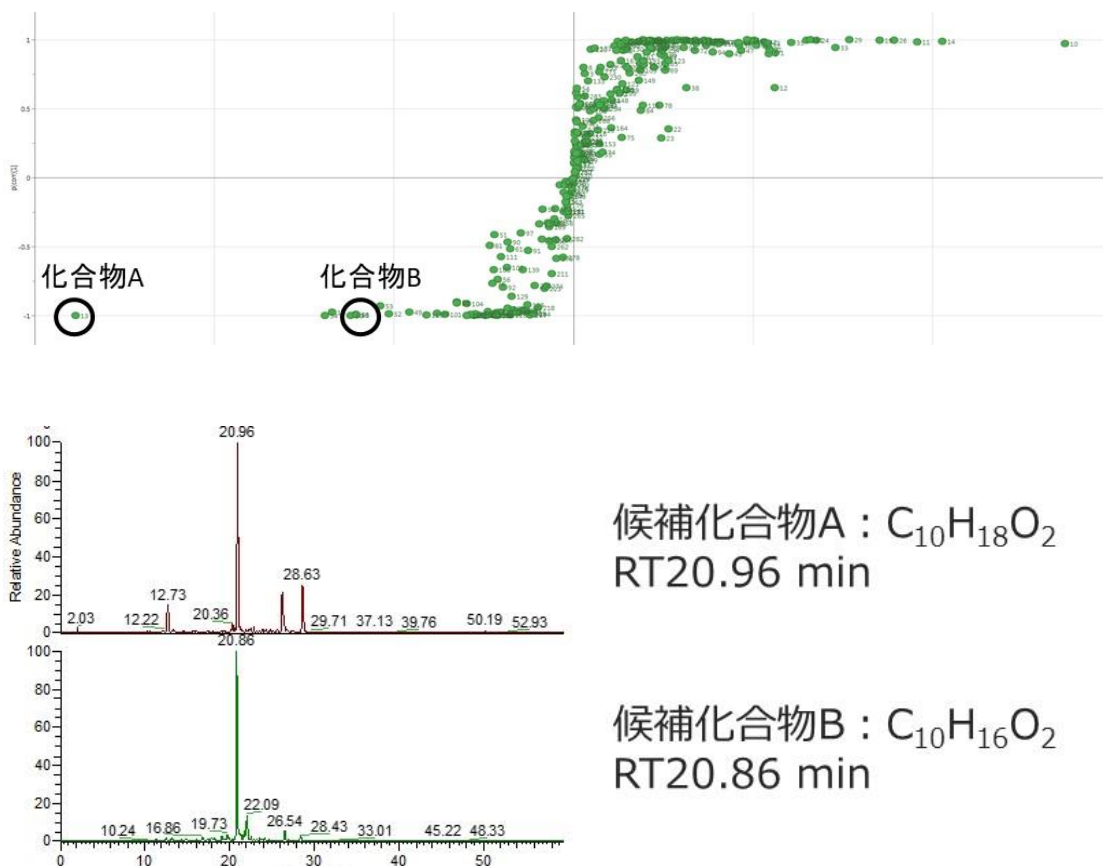


図 14. 完熟山椒エキス中の化合物 A および化合物 B

上：未熟/完熟山椒フラクション 2 の LC-MS で得られた各ピークの判別分析結果。丸印で囲んだ点がそれぞれ化合物 A，化合物 B を示している。

下：化合物 A および化合物 B の LC-MS のクロマトグラフ

表 6. 完熟山椒エキスの中の化合物 A および化合物 B

|         | 化合物 A             | 化合物 B             |
|---------|-------------------|-------------------|
| 保持時間(分) | 20.96             | 20.86             |
| 分子量     | 170.13            | 168.11            |
| 組成式     | $C_{10}H_{18}O_2$ | $C_{10}H_{16}O_2$ |
| OH基     | あり                | なし                |
| 共役二重結合  | なし                | なし                |

## 第5章

### 結論

本論文では、熟度が異なる山椒のエキスが、減塩食の風味に対してどのような味の増強効果を及ぼすかを VAS 法および TI 法による官能評価により明らかにした。

未熟山椒エキスと完熟山椒エキスはともに、塩分が低いかつお出汁の味を強める効果があることがわかり、減塩食のおいしさ向上に役立つ可能性が示唆された。特に、完熟山椒エキスは、水っぽさのなさ、満足度やおいしさの向上にも効果的であった。両エキスの味の増強効果は異なり、先味を強める未熟山椒エキスに対し、完熟山椒エキスは、味の持続性を高めることがわかった。

さらに、完熟山椒のエタノール抽出エキスを中圧分取クロマトグラフィーによって分画し、LC-MS による分析と官能評価を行った。その結果、完熟山椒エキスの味の持続性を高める効果には、サンショール類とは異なる2つの成分（化合物 A： $C_{10}H_{18}O_2$ ，化合物 B： $C_{10}H_{16}O_2$ ）が影響している可能性が示唆された。

香辛料を活用することで、塩分量を減らした際の風味の物足らなさを補うことができることは経験的に知られている。山椒においても、減塩食のおいしさを補うのに有効であることが報告されているが、熟度によりその効果が異なることは知られていなかった。未熟山椒と完熟山椒を効果的に使い分けることで、減塩食のおいしさを補うのにより役立つだろう。特に、完熟山椒は、未熟山椒に比べて調味料として使用される頻度は低いですが、本研究でサンショールの効果の持続性を高める成分の存在が示唆されたことにより、減塩食の満足度やおいしさの向上の一助となる可能性が明らかとなった。

## 引用文献

1. Intersalt Cooperative Research Group (1988), Intersalt: An international study of electrolyte excretion and blood pressure. Results for 24 hour urinary sodium and potassium excretion, *Br. Med. J.*, **297**, 319–328
2. Joossens, J. V., Hill, M. J., Elliotte, P., Stamler, R., Lesaffre, E., Dyer, A., Nichols, R. and Kesteloot, H. (1996), Dietary salt, nitrate and stomach cancer mortality in 24 countries, *Intern. J. Epidemiol.*, **25**, 494–504
3. Ikeda, N., Saito, E., Kondo, N., Inoue, M., Ikeda, S., Satoh, T., Wada, K., Stickley, A., Katanoda, K., Mizoue, T., Noda, M., Iso, H., Fujino, Y., Sobue, T., Tsugane, S., Naghavi, M., Ezzati, M. and Shibuya, K. (2011), What has made the population of Japan healthy?, *Lancet*, **378**, 1094–1105
4. 厚生労働省，日本人の食事摂取基準（2020年版），  
[https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou\\_iryoku/kenkou/eiyoku/syokujiki\\_kijyun.html](https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryoku/kenkou/eiyoku/syokujiki_kijyun.html), (2020/11/22)
5. World Health Organization (2020/4/29), Salt reduction, <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/salt-reduction>, (2020/11/22)
6. 厚生労働省（2020/1/14），平成30年「国民健康・栄養調査」の結果，  
[https://www.mhlw.go.jp/stf/newpage\\_08789.html](https://www.mhlw.go.jp/stf/newpage_08789.html), (2020/11/22)
7. 宇田健司，京極泰久（2017），減塩の最新消費者調査・市場動向とおいしい減塩食品の味作り，*食品と開発*，**52**(7), 12–14

8. 宮内大介, 石川和男 (2010), 減塩食品用調味料「ソルテイスト」による減塩・低塩食品のおいしさ向上, 食品と科学, **52**(12), 23–30
9. 武政三男 (1981), ジャパニーズペパー, 「スパイス百科事典」, 三琇書房, 東京, pp.203–209
10. 樋爪彩子 (2021), 花椒について—山椒との比較の視点から—, 日本調理科学会誌, **54**, 70–72
11. 飯島 (関和) 陽子, 諸井千春, 萩原修, 久保田紀久枝 (2002), ヘッドスペースガス分析法を用いた産地別山椒果実の香気分析, 日本食品科学工学会誌, **49**, 320–326
12. Zhang, L. L., Zhao, L., Wang, H. Y., Shi, B. L., Liu, L. Y. and Chen, Z. X. (2019), The relationship between alkylamide compound content and pungency intensity of *Zanthoxylum bungeanum* based on sensory evaluation and ultra-performance liquid chromatography-mass spectrometry/ mass spectrometry (UPLC-MS/MS) analysis, *J. Sci. Food Agric.*, **99**, 1475–1483
13. Sugai, E., Morimitsu, Y., Iwasaki, Y., Morita, A., Watanabe, T. and Kubota, K. (2005), Pungent qualities of sanshool related compounds evaluated by a sensory test and activation of rat TRPV1, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **69**, 1951–1957
14. 川端二功 (2013), スパイスの化学受容と機能性, 日本調理科学会誌, **46**, 1–7
15. Bautista, D. M., Sugai, Y. M., Milstein, A. D., Garrison, J. L., Zorn, J. A., Tsuruda, P. R., Nicoll, R. A. and Julius, D. (2008), Pungent agents from Szechuan peppers

exite sensory neurons by inhibiting two-pore potassium channels, *Nature Neurosci.*, **11**, 772–777

16. 山本奈美, 今西康晴, 三谷隆彦, 味村妃紗, 有田幹雄 (2017), 減塩を目的とした山椒による塩味増強作用の検討, 日本家政学会研究発表要旨集, **69**, 128
17. 土田高史 (2014/10/3), 塩味増強剤, 特許第 5625089 号
18. Xu, J., Lewandowski, B. C., Miyazawa, T., Shoji, Y., Yee, K. and Bryant, B. P. (2019), Spilanthol enhances sensitivity to sodium in mouse taste bud cells, *Chem. Senses*, **44**, 91–103
19. 河合崇行, 大倉哲也, 日下部裕子 (2008), リックカウンターを用いた塩味増強効果の測定, 味と匂誌, **15**, 489–492
20. 小林陽太郎, 後藤和子, 白川仁, Bryant, B., 宮澤利男, 駒井三千男 (2013), ラット味神経を用いた新規味修飾物質に関する研究, 味と匂誌, **20**, 261–262
21. 宮澤利男 (2020), フレーバーによる塩味の増強効果, 日本調理科学会誌, **53**, 295–297
22. 上岡健人 (2018), 食酢を活用した減塩への取り組み, フードケミカル, **34**(4), 39–41
23. Lee, W. E. and Pangborn, R. M. (1986), Time-intensity: the temporal aspects of sensory perception, *Food Technol.*, **40**, 71–78
24. 高橋伸彰 (2014), 咀嚼・嚥下プロセスを考慮した官能評価—時間強度曲線法 (TI 法) について—, 日本調理科学会誌, **47**, 267–271
25. 高林幸子 (2013/5/20), ヒドロキシサンショオール含有物の製造方法, 特開

2013-103901

26. Sugai, E., Morimitsu, Y., Iwasaki, Y., Morita, A., Watanabe, T. and Kubota, K.  
(2005), Pungent qualities of sanshool-related compounds evaluated by a sensory test  
and activation of rat TRPV1, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **69**, 1951–1957
27. ELSEVIER, Reaxys, <https://www.reaxys.com/>, (2020/9/10)

## 謝辞

本研究を進めるにあたり、多くの方々にご指導ご鞭撻を賜りました。

龍谷大学に入学する前から本研究について適切で貴重な助言を下さり、また、私に龍谷大学で学ぶきっかけを与えて下さいました、伏木亨先生に厚く御礼申し上げます。

博士論文の作成に当たり、大変丁寧にご指導して下さいただけでなく、コロナ禍で登校が難しい中、手続き面でもご尽力下さいました、石原健吾先生に心より感謝致します。

また、博士論文の細部までご指導して下さい、山崎正幸先生、官能評価試験に快くご協力を頂いた、原田歩実さんを始めとする学生の皆様、丁寧にご対応して下さい、農学部教務課の森本彩花様に厚く感謝申し上げます。

本研究には、ハウス食品株式会社の皆様にもご協力頂きました。  
龍谷大学入学へ背中を押して下さい、温かく見守って下さった、佐久間淳さん  
研究に繋がる様々な体験の機会と議論の場を与えて下さった、岩畑慎一さん、  
いつも相談に乗って下さり、的確にご指導して下さい、青柳守紘さん、  
頼れるパートナーであり、官能評価試験を共に取り組んだ、八木徹哉さん  
上司としていつも支えて下さった、黒部史明さん、  
官能評価試験に、業務の時間を割いて協力して下さった社員の方々、  
皆様に深く御礼を申し上げます。

そして、大変良質な山椒をご提供頂いた、かんじゃ山椒園の永岡冬樹様、初美様に心より御礼申し上げます。永岡様が育てた、上質な山椒に触れる機会がなければ、そもそもこの研究はスタートしていなかったと感じています。  
ありがとうございました。

2021 年 11 月  
樋爪 彩子