

課題 1 1 ナルトオレンジの栽培再興と食品への利用

担当者：金沢 功、桧原 健一郎

■研究目的

淡路島固有柑橘であるナルトオレンジ（以下、ナルト）は、300 年前に唐橙の変異として発見され、今日まで品種改良されず原種のまま保存されてきた（「鳴門蜜柑之伝」参照）。現在は、昭和 24 年頃の最盛期に比べると、その生産量は生産農家の高齢化や担い手不足、消費者の甘味系柑橘への嗜好性の変化、病害虫の影響などから数%まで激減している（2015 年本学調べ）。他の柑橘への転換や廃園が進み、ナルトは市場に出回る数が少なくなり「幻の柑橘」と呼ばれている。本学の研究で明らかとなったナルトの特有の香気や苦味が魅力として再確認されつつあり、加工品の開発が進んでいる。2019 年度は淡路県民局と観光情報誌「じゃらん」の指導のもと、42 商品の販売に成功した。

他には淡路県民局や北淡路農業普及技術センターの主導のもとナルトのブランド化が進められているが、本研究においては更に付加価値の高い食品開発に取り組むことを通じてナルトオレンジの栽培を再興していくことを目的とする。

■令和元年度の達成目標

食品科学：余剰原材料の果汁を用いた食酢の開発を目指す。

分子生物学：全ゲノム情報の取得を目指す。

■令和元年度研究方法

加工品の開発に伴いナルトの需要が高まる一方で、生産量の低下を緩和するために、本取組当初から苗木を配布しているが（令和元年度も継続）、苗木が成木に育つには数年かかり、さらに、生産者の平均年齢 79.4 歳（2015 年本学調べ）であることから、生産の維持は非常に難しい。

そこで、限られた原料の中、新たな加工品の可能性を探究するため、今年度は果汁を利用した食酢造りに取り組んだ。

前述のとおり、ナルトオレンジのブランド化が進められているが、その品種を客観的に評価する特定方法は未だなく、遺伝資源の確保のためにもその確立が重要であると考え、本学の育種学研究室の桧原准教授と吉備国際大学農学部の学生が特定マーカーを用いた品種診断法の検討を行った。

■令和元年度研究成果

①栽培再興に向けた苗木の配布

昨年度接木した苗木 100 本を、ナルト生産農家や新規参入農家の 3 件、ナルトを利用した加工品を販売している淡路島内の観光施設の 1 件、一般家庭の 4 件の合計 8 箇所に苗木

を配布した。また、20本ほど大学構内に仮植えし、年度末の3月に淡路市の小中学校への定植を準備している。生産量が激減したことで、市場で見かける機会が少なくなり「幻の柑橘」と言われ20代よりも若い世代ではナルトを知らない人がほとんどである。現状を打開するためにも小中学校へ苗木を配布することで若年層にナルトに対する認知度の向上を目指した。しかし、今年度中の小中学校への配布は、コロナ感染拡大を受けて、断念することになった。配布用の苗は大学側で管理して、来年度中に再度配布することを検討している。



左側) 配布した苗木と配布先の香りの館の担当者

右側) 学内の圃場に本植え予定の苗木 (右側が一年もの、左側が2年もの苗木)

②食酢開発

果皮中に香気成分を豊富に含むことから加工品としては主に果皮が利用される一方で、果肉の使い道が少ないことが問題となっている。それは、他の柑橘に比べ、タネが多く、酸味が強いのに加え、苦味を呈することで果肉が余る傾向にあると考えられる。そこで、その欠点である特徴を活かす方法として、果汁を使用した食酢造りに兵庫県立淡路高等学校と共同で取り組んだ。

洲本市内の加工業者から廃棄される果皮以外の残渣を譲り受け、淡路高校の学生達と搾汁し、タネ、ジョウノウを濾過して除き、果汁を得た。これを屈折糖度計に供して、糖度を測定したところ、およそ9%ほどであった。アルコール発酵をさせるには糖含量が少ないため、グラニュー糖で10%になるように補糖した後、ドライイーストを加えた液を25~30℃下で培養した。培養液から2日ほどで気泡が発生して、さらに2週間静置した。アルコールが十分に生成した後、酢酸菌培養液を加えて、1週間静置発酵した。試飲して、十分な酸味が感じられたところで、火入れして発酵を止めて、綿布で濾過した後、瓶詰めしたものを冷蔵保存して、試作品とした。



<食酢造りの写真>

左) 食菌 7 日目の菌膜

酢酸菌の膜が醪の表面に形成し、酢酸発酵している様子。

右) 30℃下での培養

食酢を造っている籠。右側のタッパでは液体培地に花などを入れて酢酸菌の探索を行った。

③食酢中の有機酸分析

試料調製

火入れした試作品を、遠心分離 (10,000rpm, 2min) した後、1ml の上澄液に 9ml のアセトンを加えて、0.45 μ m のカートリッジフィルターで徐タンパク質処理した。この濾液を Sep-Pak Accell の固相抽出カートリッジで処理して、0.1M の塩酸溶液で溶出した後、それを有機酸分析試料とした。酢酸の定量分析では、固相抽出を用いずに果汁を 5000 倍希釈したものを 0.45 μ m のカートリッジフィルターで濾過し、濾液を UPLC に供した。

分析

分析条件は、Waters ACQUITY UPLC の装置を用いて、カラム ACQUITY UPLC HSS T3、2.1 × 100 mm、1.8 μ m を装着したものに、移動相 A はアセトニトリルと超純水を 8 : 2 の割合で混合した溶液、移動相 B を 5mM リン酸バッファー (pH2.8) として、グラデーションの条件は測定時間が 0-5 分の間を移動相 A が 0%、6 分で A が 70%、7 分で A が 0% になるように設定し、流量を 0.5ml/min の条件で、分析試料を 6 μ l 注入して、10 分間測定した。検出波長は 210nm とした。

結果

発酵液中には、酢酸が 27.66 mg/ml、クエン酸が 1.6 mg/ml、フマル酸が 35 ng/ml、それぞれ含まれていることが明らかとなった。果汁中にはクエン酸が多く含まれるが、酢酸発酵させたため、発酵液中には酢酸が最も多く確認された。つまり、酢酸含有率では 2.8% 程度であることがわかった。来年度以降で、ナルト果汁をつかった食酢の製品化を検討する。

④ナルト品種診断方法の確立

多くの生産農家ではナルトだけではなく、ハッサクやサンフルーツなども栽培しており、品種の区別は口頭による引き継ぎや見た目の特徴から判断しており、間違えて販売されるなどのケースも稀ではあるが発生している。また、最近ではナルトのグルメ開発が進み、「淡路島ナルトオレンジ」のブランド化における品種の重要性が高まりつつある。そのため、品種を客観的に評価する手法の確立に着手した。

方法

愛媛県農林水産研究所果樹研究センターみかん研究所の二宮さん達が開発した柑橘のDNA マーカーを CAPS マーカーとして、園学研 (2015) と農研機構 (2019) で報告されたものから、16 種類のマーカーとそれぞれの設定したマーカー領域だけを切る制限酵素を用いて、ナルト、紅ナルト、ハッサク、サンフルーツの雑柑類、不知火のタンゴール類、台木用柑橘のスィングルシトロメロの 6 種類の柑橘について調べた。紅ナルトは市場流通しておらず、南淡路農業改良普及センターや一部の生産農家で栽培されており、確かなことは不明であるがナルトの派生品種と考えられている。

結果

16 種類のマーカーの中でも、Tf0013/*Afa* I と Bf0036-2/*Msp* I、Tf0271/*Afa* I (マーカー名/制限酵素) の 3 種類のマーカーを用いることで、6 種類の柑橘の内、ナルトと紅ナルトでは区別ができなかったものの、それ以外の他の柑橘とは区別が可能であることが明らかとなり、3つのマーカーと制限酵素を使用すれば、ナルトまたは紅ナルトであることが客観的に診断することが可能である。

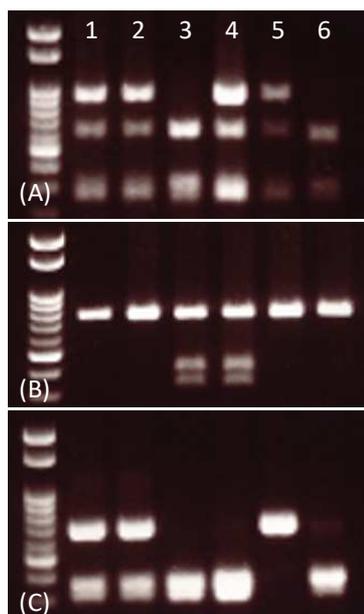


図) 各柑橘類と特定マーカーにおける電気泳動図

1. ナルトオレンジ
 2. 紅ナルト
 3. ハッサク
 4. サンフルーツ
 5. 不知火
 6. スィングルシトロメロ
- (A) Tf0013/*Afa* I
(B) Bf0036-2/*Msp* I
(C) Tf0271/*Afa* I

ナルトと紅ナルトは 16 種類全ての CAPS マーカーを用いても区別が不可能であることが明らかとなり、その確率から考えても枝変わりである可能性が高い。

淡路島内 3 市の生産農家と徳島市の苗木生産農家で栽培されている 10 箇所のナルトから遺伝子を採取し、6 種類の CAPS マーカーで品種診断した結果、全て同一の遺伝子をもつことが分かった。樹齢 150 年以上と言われている木も今回の分析対象に含まれていることから、おそらく 150 年近く前から実生ではなく、接木によって繁殖栽培されてきたと考えられる。

■令和元年度の達成目標の状況

食品科学：余剰材料の果汁から食味性の高い食酢の生産が可能である確認が取れた。

分子生物学：ナルトと紅ナルトのゲノム情報は取得できた。また、ゲノム情報を利用し、淡路島なるとオレンジと他の柑橘とを客観的に比較する品種診断方法を確立できた。

以上のことから、目標は達成されたと判断している。

■最終目標の達成状況

1) 地元企業への完成レシピの製品化依頼およびブランド化

当初の実施計画よりも研究期間が短縮されたことで、地元企業へレシピ提供することはできなかったが、香気分析結果をダイドードリンコ株式会社に提供し、人工香料を開発することができた。この人工香料を香りが出る自動販売機として製品化し、島内に 10 台設置することができた。

2) 大学ブランド化して製品の販売

2018 年度に「淡路島なるとオレンジアイス 大人のほろ苦い柑橘」として 200 食の販売に成功し、好評であったため 2019 年度は 400 食の増産することができた。今後は、OEM を活用することで、大学ブランド商品として定期的に販売することを計画している。

■研究成果の発表

香り分析の応用

固有柑橘であるナルトは果皮の精油にグレープフルーツ様の香りを呈する *nootkatone* やパネリストにはカメムシ臭と表現される 2,4-decadienal, 2,6-dodecadienal が含まれることで他の柑橘に比べて香りが高く、鳴門漬けオレンジピールなどの果皮を原料とする加工品が主に親しまれてきた。しかし、この香りは 4 月下旬から 5 月上旬をピークにして、それ以外の期間では比較的香りは弱く、一年を通してナルトの香りを体験することは難しい。そこで、2015 年度に行った香気分析のデータを参考にして、人工香料を開発し、ナルト特有の香りが出る噴霧器をダイドードリンコ株式会社と共同で開発し、いつでも香りが体験できるようにした。この自動販売機は令和元年度中に、淡路市、洲本市、南

あわじ市の協力でこの自動販売機は島内に 10 台設置することができた。内 2 台は大学構内に設置された。年度末に予定していた成果発表会が中止になったため、自動販売機の設置に関する報告は、2020 年 4 月 2 日に記者発表を兵庫県南あわじ市にある淡路島の地元食材直売所「美菜恋来屋」で行い、4 月 8 日の神戸新聞朝刊と web ページで行われた。



<自動販売機設置>

- (左) 大学構内に設置した自動販売機。ナルトの写真が自動販売機前面にプリントされている。
- (中央) 自動販売機側面。風景に溶け込みやすい色合いを意識した。
- (右) 噴霧器のイメージ。無料でボタンを押すことができナルト特有の香りをいつでも体感できる。