

令和 6 年 6 月 26 日現在

機関番号：12301

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K12289

研究課題名（和文）食品廃棄物の植物活力剤としての可能性の検証

研究課題名（英文）Verification of the potential of food waste as a plant vitalizer

研究代表者

秦野 賢一（Hatano, Ken-ichi）

群馬大学・大学院理工学府・助教

研究者番号：20282410

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,600,000円

研究成果の概要（和文）：実験用圃場で葉野菜であるコマツナとキャベツ、そして果菜であるエダマメとハナマメを各種MLP添加条件で栽培した。収穫した植物体の各組織の生重量や、果菜の場合は各種鞘の生産量を計測した。さらに各組織を磨り潰して遠心して、その上清の各種生化学的指標の測定をおこなった。代表例としてエダマメの栽培結果を取り上げるが、MLPを60 mg添加した条件では商品価値が高いと言われる豆が3つ入った莢の生産数が対照条件と比べて有意に多く、そして硝酸イオン濃度が有意に低くなることが確認された。この原因を、エダマメの豆、葉、そして土壌の生化学的指標から多角的に考察した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

土壌の生化学的指標を合わせて総合的に考察すると、MLP添加によって土壌中のミネラルや硝酸イオンの根への取り込みが促進されることがわかった。一方、葉においては硝酸イオンが過剰となり、莢ではMLP添加によって葉より豊富に供給される硝酸イオンを利用してタンパク質の生合成が促進され、MLPを添加した条件では豊富なタンパク質を使って豆の多い莢に多くが分化したと推測された。このようにMLPの添加は、従来の肥料のように栄養素を供給するのではなく、栄養素の作物の各組織間の移動効率を高めて作物を元気にさせ商品価値を高める植物活力剤としての高い可能性を示した。

研究成果の概要（英文）：In an experimental field, we cultivated leaf vegetables Komatsuna and cabbage, and fruit vegetables edamame and hyacinth bean under various additive conditions of melanoidin-like product (MLP) from sugarcane molasses. We measured the fresh weight of each tissue of the harvested plants, and in the case of fruit vegetables, the production of various pods. Additionally, each tissue was ground and centrifuged, and the supernatant was analyzed for various biochemical indicators. As a representative example, the cultivation results of edamame are highlighted: under the condition of adding 60 mg of MLP, the number of pods containing three beans, which are considered to have high commercial value, was significantly higher compared to the control condition, and the nitrate ion concentration was significantly lower. The cause of these results was comprehensively examined through the biochemical indicators of edamame beans, leaves, and soil.

研究分野：環境科学

キーワード：植物活力剤 食品廃棄物 廃糖蜜 メラノイジン 植物修復 褐変物質 シリカキセロゲル 徐放性

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

廃糖蜜とは精糖工場で発生する副産物であり、世界で年間約 5100 万トンも発生している。廃糖蜜は残存糖を多く含むためにバイオエタノール生産に利用されているが、発酵液の蒸留後の残渣は有機物含量や色度が非常に高いため、そのまま廃棄すると深刻な環境問題を引き起こす事が報告されている。¹⁾ そのため、微生物による有機物やメラノイジン類似生成物 (MLP) の分解や、凝集・沈殿、酸化処理によって廃液中の MLP を除去・分解して色度を下げる処理がなされている。しかし、これらの処理には多量の水と広大な土地が必要となり、かえって環境汚染を助長させる事が懸念される。研究代表者は以前、酸性化した希釈廃糖蜜を合成吸着樹脂 XAD-7HP を充填したカラムに通液する事で廃糖蜜中の残存糖と MLP を分離・回収する非常に簡素なシステムを開発した (図 1)。^{2,3)} また、MLP が多くの重金属に対してキレート活性を持つ事を最近発見し、各金属イオンに対するキレート容量を明らかにした。^{4,5)}

植物修復とは、水分や養分を根から吸収する能力を利用して土壌や地下水中の汚染物質を植物に吸収させる技術である。⁶⁾ 従来の掘削除去や化学物質の抽出作業など物理的/化学的修復技術と比べて、安価で広範囲の土壌処理が可能な環境調和型の技術である。一方で、植物修復には生長に時間がかかる点や生育環境によって体内吸収率が異なるという課題もある。これらの解決策として、キレート剤を添加して土壌中の金属の移動性を高めて植物体内への吸収率を上げる試みが世界中で研究されている。⁷⁾ 研究代表者はダイコン *Raphanus sativus* やセイヨウアブラナ *Brassica napus* などアブラナ科植物を、MLP を含む各種キレート剤と硫酸銅、硝酸鉛または塩化ナトリウム含有培地で栽培した結果「MLP は植物体内に多くの金属を取り込ませるが、クエン酸錯体のような毒性は示さない」という植物修復促進剤として優れた特性を示す事を明らかにした。⁸⁾ このことから、MLP を添加することで干ばつや冷害など一般の環境ストレスにも植物体に耐性を与える「植物活力剤」として活用できるのでは、と考えた。

2. 研究の目的

従来の寒天培地のような実験室レベルではなく、実際の圃場にメラノイジン類似生成物 (melanoidin-like product; MLP) を投与して作物を重金属が存在しない環境下で栽培することが目的である。そして収穫した各組織の生重量や生産された果実の数、そして生化学的特性と圃場の土壌特性を測定することによって、MLP が植物活力剤として働くかどうか検証する。

3. 研究の方法

(1) 植物体の栽培と生化学的指標の測定

通常の田畑での栽培条件に合わせて有機肥料や苦土石灰などの元肥量を調整した実験圃場を協力農家の茂木清七様に準備して頂き、葉菜や果菜の生育に与える MLP の効果を調査した。栽培にあたっては作物に余計なストレスを与えないために、防虫ネットや防草シートを設置して農薬や除草剤は一切使用しなかった。この圃場で各種作物を栽培して、収穫後の各組織を以下の項目の分析をした。第一は投与する MLP の量で、これまでの植物修復実験で結果が良好だった一株当たり 60 mg の MLP 投与量を参考にして、その前後の投与量での調査をおこなった。第二は作物組織の各種生化学的特性の解析で、植物組織を乳鉢と乳棒を用いて 4℃ですりつぶして、遠心処理をした上清を測定用試料として、正常な代謝が行なわれているかを判断する「pH」、ミネラルの総量を示す「電気伝導度」、生長するためのエネルギー源や味覚に影響を与える「糖度」、過剰に存在すると日持ちの悪さや

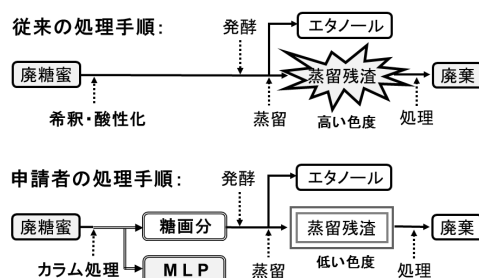


図 1. 廃糖蜜からのエタノール生産

一般の廃糖蜜発酵工場でも雑菌のコンタミ防止のため希釈廃糖蜜を pH4 程度まで酸性化するため、申請者の処理法で得られる糖画分はそのまま酵母発酵工程に使う事ができる。この蒸留残渣には難分解性の MLP がいないため、廃棄処理が容易である。

苦味などの原因となる「硝酸イオン濃度」、植物のストレス度と相関している「抗酸化酵素スーパーオキシドディスムターゼ (SOD) 活性」を測定した。最後は実験圃場の土壌特性の解析で、播種時と収穫時の土壌試料を採取して、東京都土壌診断基準法に従って pH、電気伝導度、硝酸イオン濃度を測定した。

(2) MLP 含有シリカキセロゲルの作成と実験圃場への投与

本研究では、シリカキセロゲルに MLP を含有させた形態 (MLP 錠剤) が作物の生長に与える効果も調査した。これは、埋没させた MLP 錠剤から持続的に MLP を放出させて省力化させるなど、実用化に向けた工夫の一環である。MLP 錠剤は、原料のオルトケイ酸テトラエチル、水、エタノール、触媒を混合させてゲル化させた。一株当たりの最適 MLP 投与量を含むシリカ錠剤を作製して、実際の圃場での MLP 放出特性を解析した。放出量は種々の MLP 量を含む錠剤の検量表と比色して定量した。圃場に MLP 錠剤を投与して栽培実験をおこない、収穫した作物と土壌の各種生化学的特性を解析した。特に、作物の高付加価値化に直結する硝酸イオン濃度に関しては、各生長段階において土壌をサンプリングして、MLP 投与量そして作物と土壌の硝酸イオン濃度との相関関係を考察した。

4. 研究成果

(1) コマツナやキャベツなどの葉菜の生育に対する MLP の効果

各実験条件におけるコマツナとキャベツの各組織の生重量と生化学的指標を測定した。コマツナに関しては、MLP を 60 mg 添加した条件 (MLP60) と MLP を 180 mg 添加した条件 (MLP180) 条件の生重量が MLP 無添加条件 (w/o) 条件と比較してそれぞれ 37% と 40% の有意な増加が確認できた (図 2)。特に根の重量では、50% の有意な増加が確認できた。一方で SOD 活性では、MLP60 と MLP180 条件で w/o 条件と比べてそれぞれ 18% と 23% の有意な減少が確認できた。これらの結果から、コマツナでは MLP 添加によって環境ストレスを軽減してコマツナの生長を促進している事が考えられた。導電率、糖度そして硝酸イオン濃度においては、MLP 添加による有意な差が見られなかった。

キャベツに関しては、生重量は MLP60 条件で w/o 条件と比較して 31% の有意な増加が確認できた (図 2)。特に根の重量では、100% の有意な増加が確認できた。これはコマツナでの実験と同様に、土壌中の MLP が直接、根の成長に関与している事を裏付けている。一方 SOD 活性において、MLP180 条件では逆に w/o 条件と比較して有意な活性の増加が確認された。導電率では MLP60 条件で w/o 条件と比べて有意に 28% 増加することが確認された。これは MLP がミネラルの取り込みを促進していると考えられる。糖度においては全ての条件間で有意な差がなかったが、全体として w/o 条件と比べると増加していた。また硝酸イオン濃度でも全ての条件間で有意な差がなかったが、糖度と同様に MLP 添加条件において w/o 条件と比べて高かった。これは、MLP によって根の生長が促進されて、タンパク質の原料としての硝酸イオンの取り込み量が増大したと思われる。

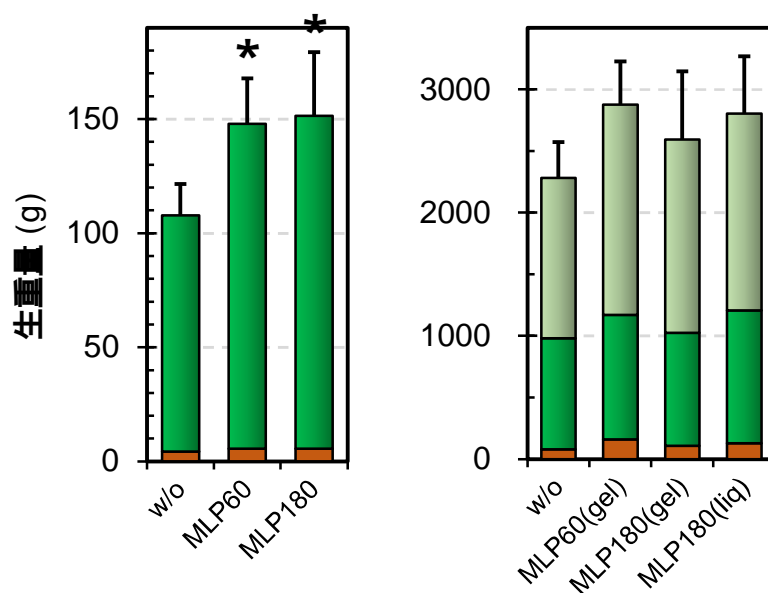


図 2. コマツナとキャベツの生重量に与える MLP 添加量の影響

棒グラフ下の条件系列において w/o は MLP 無添加の条件、MLP60 は溶液状態で MLP を 60 mg 添加した条件、MLP180 は溶液状態で MLP を 180 mg 添加した条件を表している。MLP60(gel)はゲル状態で MLP を 60 mg 添加した条件、MLP180(gel)はゲル状態で MLP を 180 mg 添加した条件を表している。各条件の検体数は 8 であり、エラーバーは 95%信頼区間を示す。エラーバー付近の * は w/o 条件と比べて有意差がある事を示している。棒グラフの茶色は根、緑は苗条、そして薄い緑色部分は結球の生重量を表している。

キャベツの栽培では、MLP 錠剤を使用した。MLP 含有量を変化させたゲル検量写真データと圃場から回収されたゲル写真を比較した結果、MLP60(gel)と MLP180(gel)条件で回収されたゲルはどちらも 10 - 15%の MLP が残存していると判断できた。このことから、栽培期間を通して 85 - 90%にあたる量の MLP が土壌へと放出されてキャベツの生長促進に参与したと考えられる。このように MLP 錠剤は十分に機能したと考えられるが、その作成には手間と時間がかかるため今後、その作成方法の簡略化に着手する。

(2) エダマメやハナマメなどの果菜の生育に対する MLP の効果

MLP60 条件でエダマメを実験圃場で栽培すると、豆が 3 つ入った莢 (pod3) の生産数が w/o 条件と比べて有意に多くなることが確認された (図 3)。この理由を、エダマメの豆、葉、そして土壌の生化学的指標を測定することによって考察した。豆と葉の SOD 活性を見ると、殆どの MLP 添加条件で w/o と比較して有意な増加が確認できた。このことから、MLP を添加すると、エダマメ全体の抗酸化活性が上昇することが示唆された。導電率に関しては、全条件において豆では高く、葉では低い結果となった。導電率が高いことは、カリウム、リン酸、硝酸イオン、アミノ酸、糖などの電解質濃度が高いことを示している。一般に植物は栄養を種子に蓄積するので、葉よりも豆で導電率が高いという結果と矛盾しない。最後に硝酸イオン濃度であるが、葉では w/o と比較して MLP 添加条件で有意な増加が見られた。一方、豆では MLP 添加条件で有意な減少が見られた。おそらく MLP 添加条件では、豆ではタンパク質の生合成のため硝酸イオンを多く消費したと考えられる。土壌の生化学的指標を合わせて総合的に考察すると、MLP を添加することで土壌中の硝酸イオンの根への取り込みが促進され、ミネラルなどの電解質も吸収が促進されることがわかった。一方、葉においては MLP 添加によって硝酸イオンが過剰となり、莢では MLP 添加によって葉より大量に供給される硝酸イオンを利用してタンパク質の生合成が促進されたと考えられる。その結果として、MLP を添加した条件では豊富なタンパク質を使って多くの莢が豆の多い pod3 に分化したと推測した。

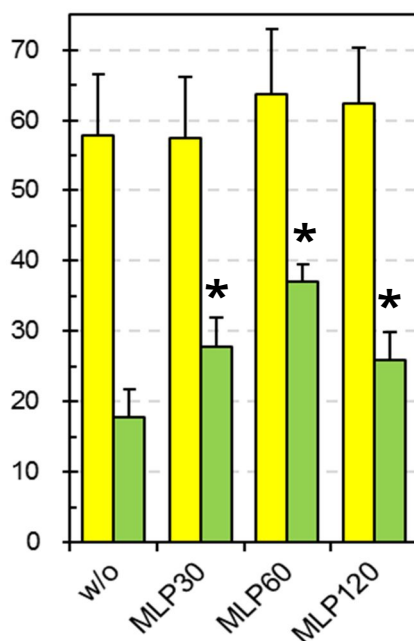


図 3. エダマメの各種別鞘の生産量に与える MLP 添加量の影響

棒グラフ下の条件系列において w/o は MLP 無添加の条件、MLP30 は溶液状態で各植物体に MLP を 30 mg 添加した条件、MLP60 は MLP を 60 mg 添加した条件、MLP120 は MLP を 120 mg 添加した条件を表している。莢の数において黄色の棒は豆が 3 つ入った莢 (pod2) を、緑色の棒は豆が 3 つ入った莢 (pod3) の数を示している。各条件の検体数は 8 であり、エラーバーは 95%信頼区間を示す。エラーバー付近の * は w/o 条件と比べて有意差がある事を示している。

ムラサキハナマメ（ハナマメ）は冷涼な気候を好み、標高 800 m 以下の平野部など温暖な地域では花が咲いても結実しないため、現在のところ標高 900 - 1200 m の耕地で栽培されている。そのため、国内では主に群馬県，長野県，北海道の高地で栽培されている。本研究では、標高 522 m の群馬県沼田市下川田町の実験用圃場でも結実するのか、MLP の添加効果にも着目しながら調査を進めた。これまでおこなってきた予備実験結果を参考にし、播種の時期を一般におこなわれている 4 月ではなく、結実に重要な開花期が冷涼期である 10 月になるように 7 月に設定した。MLP は錠剤の形態で圃場に添加して、ハナマメの結実状態や各種生化学的指標などの商品価値が向上するか調査した。結果として、播種時期を 7 月にずらすことで標高 522 m の圃場でも多くの豆が結実することを明らかにした。特に、大きさが 3.5 cm 以上の商品価値の高い豆の生産数が、w/o と比べて MLP 添加条件で二倍以上増加した。葉の組織液の糖度と硝酸イオン濃度は、w/o よりも MLP を添加した条件の方が大きくなる傾向が見られた。一方で豆の抽出液を分析したところ、電気伝導率とタンパク質濃度に関して同様の傾向が見られた。このことは、MLP を添加することによって土壤中の栄養分の根への取り込みが促進され、葉では硝酸イオンが w/o 条件より多く存在し、莢では豊富な硝酸イオンを利用してタンパク質生合成が促進され、豊富なタンパク質を使って多くの莢で大きな豆を生産することができたと考察された。これまで栽培してきた作物の商品価値が向上した MLP 添加量の最適値が、ハナマメのそれと同様であったことは大変興味深い。

<引用文献>

- 1) Agarwal *et al.* (1994) Soil pollution by spent wash discharge: depletion of manganese (II) and impairment of its oxidation. *J. Environ. Biol.*, **15**, 49–53
- 2) Hatano *et al.* (2008) Separation and characterization of the colored material from sugarcane molasses. *Chemosphere*, **71**, 1730–1737
- 3) Hatano *et al.* (2009) Novel strategy using an adsorbent-column chromatography for effective ethanol production from sugarcane or sugar beet molasses, *Bioresource Technol.*, **100**, 4697–4703
- 4) Hatano *et al.* (2013) A study on the self-assembly behavior of dark materials from molasses. *Environ. Sci. and Pollut. Res.*, **20**, 4009–4017
- 5) Hatano *et al.* (2016) Molasses melanoidin promotes copper uptake for radish sprouts: the potential for an accelerator of phytoextraction, *Environ. Sci. Pollut. Res.*, **23**, 17656–17663
- 6) Raskin *et al.* (1997) Phytoremediation of metals: using plant to remove pollutants from the environment. *Curr. Opin. Biotechnol.*, **8**, 221–226
- 7) Blaylock *et al.* (1997) Enhanced accumulation of Pb in Indian mustard by soil-applied chelating agents. *Environ. Sci. Technol.*, **31**, 860–865
- 8) Hatano *et al.* (2018) Molasses melanoidin-like products enhance phytoextraction of lead through three. *Int. J. of Phytoremediation. Res.*, **20**, 552–559

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Hatano Ken-ichi, Teraki Minoru, Nakajima Daiki, Yamatsu Takeshi	4. 巻 28
2. 論文標題 Controlled release of molasses melanoidin-like product from hybrid organic/inorganic silica xerogels and its application to the phytoextraction of lead through the Indian mustard	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Environmental Science and Pollution Research	6. 最初と最後の頁 37562 ~ 37569
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s11356-021-13363-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 秦野 賢一、蛸谷 圭汰、武田 瑞穂、茂木 清七、杉山 貞彦、若松 馨
2. 発表標題 食品廃棄物を使った群馬県産エダマメの高付加価値化
3. 学会等名 環境化学物質3学会合同大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 秦野 賢一、池田 明優、青柳 直和、佐藤 優希、井上紗希、若松 馨
2. 発表標題 廃糖蜜のメラノイジン類似生成物のアブラナを使った植物除塩実験への応用
3. 学会等名 環境化学物質3学会合同大会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 廃糖蜜等の脱色方法	発明者 秦野賢一	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2022-15775	出願年 2022年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

食品工学プログラム 秦野研究室のホームページ
<https://hatano.chem-bio.st.gunma-u.ac.jp/>

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------