

除塩及び除染効果を示したステビア熱水抽出発酵液中の K の Na⁺, Cs⁺による挙動変化

岡本 啓湖¹⁾, 小林 和樹¹⁾, 牧 毅郎¹⁾, 山下 純平¹⁾
阪野 真菜¹⁾, 浅田貴美子¹⁾, 山田 直隆²⁾, 山川 武夫²⁾

【要 旨】

平成23年3月東北地方を襲った地震による塩害水田では除塩効果が、放射性 Cs 汚染では除染効果が認められた農業資材ステビア熱水抽出発酵液に高濃度で含まれる K の Na⁺, Cs⁺存在下での挙動を調べた。活性炭素カラムクロマトグラフにより全量回収した K 画分を各濃度の NaCl, CsCl 添加により、室温で透析膜 (MW: 100-500) を用いて室温で1晩透析し膜外の K 量を測定した。1モルの Na⁺により 4.42モル, 1モルの Cs⁺により2.77モルの K が膜外に放出された。

【キーワード】

農業資材, ステビア熱水抽出発酵液, K, Na⁺, Cs⁺

緒 言

甘味料の原料である *Stevia rebaudian* Bertoni の茎を利用したステビア農業資材には、乾燥させ粉末にした“ステビア粉末”、ステビア粉末を熱水で抽出し発酵させた“ステビア熱水抽出発酵液 (FARM-A)”、ステビア粉末を牛糞に加えて短期間発酵させた“ステビア堆肥”がある。これらステビア農業資材施肥による現場での収穫作物の増大・増収効果、残留農薬減少効果、硝酸態窒素減少効果が確認され、これら効果のメカニズム解明が続けられている。FARM-A に発根促進効果が確認され¹⁾、収穫作物の増大・増収効果²⁾に繋がると考えられている。残留農薬の減少では、ステビア熱水抽出発酵液由来の乳酸菌の *Lactobacillus* sp. FJAS201 (*Lactobacillus buchneri* 近縁) が 4,4'-Dichlorobezohopenone (有機塩素剤) を 11.72% に減少、Ethofenprox (トレボン乳剤) を 71.25% に減少させることが明らかにされた³⁾。ステビア粉末由来 *Ureibacillus thermosphaericus* を含む 5 種類の高温菌^{4,5)}、及び 2 種類の中温菌⁶⁾ が硝酸還元活性を保有することが確認され、更に上記 *Ureibacillus thermosphaericus* は DGGE 分析によりステビア堆肥に移行していることも明らかになっている⁴⁾。しかし、1%食塩存在下で硝酸還元活性が認められたステビア粉末は、3%食塩 (海水の塩濃度に近似) 存在下でそれは認められなかった⁷⁾。

¹⁾別府大学食物栄養科学部発酵食品学科, ²⁾九州大学大学院農学研究院

平成23年3月の東日本大震災の津波で沿岸地域の農地が海水を被り、高濃度の塩分が存在し、早急な土壤修復が望まれていたことから、これまでの研究成果から宮城県石巻市蛇田地区の塩害水田にてステビア農業資材の施用試験を行い、ステビア農業資材の有する塩害低減効果を検証した。その結果、ステビア農業資材試験区のひとめぼれ（使用苗品種）の生育が確認され、隣接するステビア農業資材非施肥区（対照区）に比べ一目瞭然の差異が見られ（下記図）、試験区での収穫量は9俵となり例年（8俵）に優るものであった（未発表）。



津波冠水圃場（ヘドロなしだが、当初の塩分濃度高く1.6%）
平成23年9月15日（石巻市）

しかし、ステビア農業資材に上記の除塩効果が確認されながら、この効果のメカニズムは未解明のままである。本研究ではステビア農業資材の上記除塩効果のメカニズム解析を目的とし、ステビア農業資材の中でも特に効果が見られたFARM-Aに着目し、そのK画分の環境を把握した上で、KのNa⁺存在下の挙動について検討した。

同年の震災により東京電力の原子力発電の崩壊による放射線汚染を受けた茨城市鉾田市からのステビア農業資材により栽培されたホウレンソウの放射性ヨウ素（I-131）量、放射性セシウム（Cs-134, 136, 137）総量を測定した結果、暫定規制値を下回る結果が得られた（未発表）。また福島県南相馬市に位置する圃場を実験圃場とし、ステビア堆肥、FARM-Aを施用した土壤中の放射性セシウムの濃度が10%程度低下し、ブロッコリーのCsの吸収抑制が確認された⁸⁾。

更にポット実験ではFARM-Aにより水耕栽培の水稻のCs⁺の吸収抑制が確認された⁸⁾。

これら上記の報告からステビア農業資材による放射性Cs汚染での除染効果が示唆されることから、本研究ではステビア農業資材の上記放射性Cs汚染での除染効果のメカニズム解析とし、FARM-AのKのCs⁺存在下での挙動について検討した。

実験方法

FARM-Aの活性炭素カラムによるK画分（CF①）の分画

FARM-Aを遠心分離（12,000rpm×20min）して得られた上清液を活性炭素（カラムクロマトグラフ用031-02135, 和光純薬工業株式会社）を充填剤としたカラム（φ50×450mm, バイオカラムCF-50-1）に20%添加し、フラクションコレクター（流速：2.8ml min⁻¹, 分画容量/本：20ml）で分画した。各溶出液のK濃度は、K標準液（和光純薬工業株式会社）を用いて、原子吸光分光光度計（AA-6200型, 島津株式会社製）にて波長766.5nmで測定し、高濃度Kを示すフラクションを混合し、エバポレーターにより60℃で濃縮した後、超純水で100mlに定容し、CF①とした。

CF①の構成成分解析

1. 各定性反応による解析

糖定性試験には、1%グルコース及び1%ステビオサイドを対照とし、CF①を糖類全般に適用できるアンスロン反応、糖および糖を含むすべての物質に陽性の反応であるモーリッシュ反応に供した。更に銀橋反応によりアルデヒド基を、セイワノフ反応により（対照：1%グルコース、1%フルクトース）ケトース及びその誘導体の有無を確認した。またフェーリング反応により還元糖の有無を調べ、パーフォード反応により単糖類、二糖類等の区別を行った。アミノ酸・タンパク質定性試験には、1%グルタミン酸、1%トリプトファン、1%アルブミンを対照として、CF①をニンヒドリン反応に供した。

2. トリクロロ酢酸（TCA）分画及び各画分の各定性実験

CF①0.5mlに20%TCA0.5mlを加えて、二晩冷凍し、解凍した後、遠心分離（15,000rpm×10min）で得られる上清を新エッペンに移し取り（Sup15（CF①+TCA））、沈殿画分には蒸留水0.5mlを加え十分に攪拌した（Ppt15（CF①+TCA））。両画分をアンスロン反応、ニンヒドリン反応に供した。

3. アミノ酸組成解析

5倍希釈CF①5.0mlに20%TCA5.0mlを加えて、30分間冷凍し、解凍後、遠心分離（8,000rpm×10min）して得られた上清画分（CF①TCA混合試料液）を、アミノ酸混合液混合標準液（和光純薬工業（株））を用いて、L-8900形高速アミノ酸分析計アミノ酸アナライザー（（株）日立ハイテクノロジー）に供した。

4. ペーパークロマトグラフィー（PPC）によるグルコース及びステビオサイドの確認

CF①を凍結乾燥して粉末化し、蒸留水で20%溶液を調整した。対照として1%グルコース、1%ステビオサイドと共に東洋ろ紙（No50）に、数回に分けて計20μlを塗布し、n-ブタノール：ピリジン：水（6：4：3）の展開溶媒で展開した後、発色剤（アニリンフタレート）を噴霧し、100℃の乾燥器中で30分加熱した。

5. L-乳酸濃度測定

凍結乾燥CF①粉末及びCF①凍結残渣を蒸留水で1.0%溶液を作製し、これらのL-乳酸濃度をF-キット（J.K.インターナショナルINC）により測定した。

6. K及びK⁺量測定

（株）島津テクノロジー試験解析事業部AMC部に外部委託し、CF①凍結乾燥粉末（0.1gを2%硝酸溶液50mLに溶解）の全K濃度をICP発光分光分析装置ICPS-8100で分析し、同粉末のK⁺濃度分析（101.01mgを蒸留水25mlに溶解）にはShin-pack IC-C4カラムを用い、シュウ酸溶液を移動相に用いて分離を行い、電気伝導度検出器を用いたノンサブレッサ方式で検出した。

CF①のNaCl添加によるKの動向

1. 同濃度NaCl添加CF①の透析処理による透析膜内外のK量変化

CF①の0.57%K濃度と同濃度NaClは、CF①5mlにNaClを0.0287g添加して作製した（CF①5ml+0.57%NaCl）。CF①5ml及びCF①5ml+0.57%NaClを透析膜Spectra/Por,Spec-

trum MW : 100-500に詰め、各々蒸留水1,850mlに対して室温で24時間透析した。透析終了後、各外液は2,000mlに、各内液は100mlに定容した。CF①の透析外液をCF①画分外液、同内液をCF①画分内液とし、CF① 5 ml + 0.57%NaClの透析外液をCF①画分+NaCl・外液、同内液をCF①画分+NaCl・内液とした。非透析CF①及びCF① 5 ml + 0.57%NaClと各透析画分のK量をAA-6200型島津原子吸光度計にて、波長766.5nmで測定した。

2. 添加Na⁺と透析膜外に放出されるCF①Kとの量的関係

CF① 5 mlに、CF①K濃度(0.57%)の1.0, 1.5, 2.0倍のNaClを添加し、各々CF① 5 ml + 0.57%NaCl, CF① 5 ml + 0.855%NaCl, CF① 5 ml + 1.14%NaClを作製した。各試料及びCF① 5 mlを透析膜 Spectra/Por,Spectrum MW : 100-500に詰め、蒸留水1,850mlに対して室温で24時間透析した。透析終了後、外液は2,000mlに、内液は100mlにメスアップし、非透析CF①及び各透析画分のK量をAA-6200型島津原子吸光度計にて、波長766.5nmで測定した。添加Na⁺による透析膜内外液でのKの変化量を調べることで、両者の量的関係を導いた。

CF①のCsCl添加によるKの動向

添加Cs⁺と透析膜外に放出されるCF①Kとの量的関係

CF① 5 mlに、CF①K濃度(0.565%±0.0524%)の1.0, 2.0, 3.0, 4.0倍のCsClを添加し、各々CF① 5 ml + 0.565%CsCl, CF① 5 ml + 1.130%CsCl, CF① 5 ml + 1.695%CsCl, CF① 5 ml + 2.260%CsClを作製した。各試料を個々に透析膜 Spectra/Por,Spectrum MW : 100-500に入れ、室温で蒸留水450mlに対して24時間透析した。透析により得られた各透析内液は50mlにメスアップし、透析外液は500mlにメスアップ後、AA-6200型島津原子吸光光度計にてK 766.5nmでK濃度を測定した。添加Cs⁺による透析膜外液でのKの変化量を調べることで、両者の量的関係を導いた。

結果及び考察

FARM-Aの活性炭素カラムによるK画分(CF①)の分画

FARM-AのKは活性炭素カラムクロマトグラフにより106.66±4.51%の回収率が得られ、更にFARM-Aの特徴的な黒褐色の色素も除去された。

CF①の構成成分解析結果

表-1 各種定性反応によるCF①含有物質の同定結果

反応名	陽性反応で確認される物質	陽性反応	反応結果	CF①含有物質
モーリッシュ反応	糖及び糖誘導体	赤紫色の輪	陽性	糖及び糖誘導体
フェーリング反応	還元糖	赤色沈殿	陰性	糖誘導体
バーフォード反応	単糖類, 二糖類	5分以内に赤色沈殿	陰性	糖誘導体
セイワノフ反応	ケトース及びケトース誘導体	赤色を呈する	僅かに陽性	アルデヒド基の存在
ヨウ素デンプン反応	デンプン	濃青色を呈する	陰性	デンプンの存在無し
ニンヒドリン反応	タンパク質	青紫色を呈する	陽性	タンパク質含有

FARM-Aは *Stevia rebaudian* Bertoni の茎を熱水で抽出し発酵させた発酵液である。*Stevia rebaudian* Bertoniには糖類のステビオサイド(ステビオールにグルコースが3個結合)が含ま

れるので、発酵液 FARM-A にもステビオサイド（もしくはその分解物）の存在が考えられることから、その K 画分である CF①の糖の存在を調べた。CF①はモーリッシュ反応に於いて、1%グルコース溶液同様に赤紫色の輪が見られ、糖の存在が確認され、更にアンスロン試薬でも CF①は青緑色を呈し、1%グルコースより濃度が薄い、糖の存在が再確認された。また 1%ステビオサイドも両定性反応で陽性を示したことから、ステビオサイドにもこれら定性反応の適用性が認められた。更に CF①は銀鏡反応に於いて、1%グルコース溶液とは違い、銀鏡が見られなかったことから還元性が無いことが確認された。1%のステビオサイドも陰性を示したことから、ステビオサイドにも還元性が無いことが明らかになった。セイワノフ反応では濃赤色を呈する 1%フルクトース溶液と比較し、CF①は 1%グルコース溶液に近い透明のオレンジ色を呈したことから、ケトース及びその誘導体は含まれない。バーフォード反応測定結果では 1%グルコース溶液とは相違し、CF①では赤色沈殿が確認できなかったため、単糖及び二糖類の可能性が否定された。また CF①のニンヒドリン反応では対照の 1%グルタミン酸、1%トリプトファン、1%アルブミン溶液同様に青紫色を呈した。これらの結果から CF①の構成成分として、グルコースは含まれず、ステビオサイドに類する糖と、アミノ酸、タンパク質が示唆された。

ニンヒドリン反応に陽性を示した CF①の構成成分を更に TCA 処理により検証した。CF①を TCA 処理後、遠心分離 (15,000rpm×10min) し、タンパク質を除去した上清画分 Sup15 (CF①+TCA) のみニンヒドリン反応で僅かに赤色を呈し陽性を示したことから、CF①の構成成分はアミノ酸と考えられる。またアンスロン反応で同様に処理した対照試料 (1%グルコース、1%ステビオサイド、5%ステビオサイド) と同じ陽性反応 (緑色) を示したのも、Sup15 (CF①+TCA) のみであった。これらの結果から、CF①はステビオサイドに類する糖と、アミノ酸を含むことが確認された。

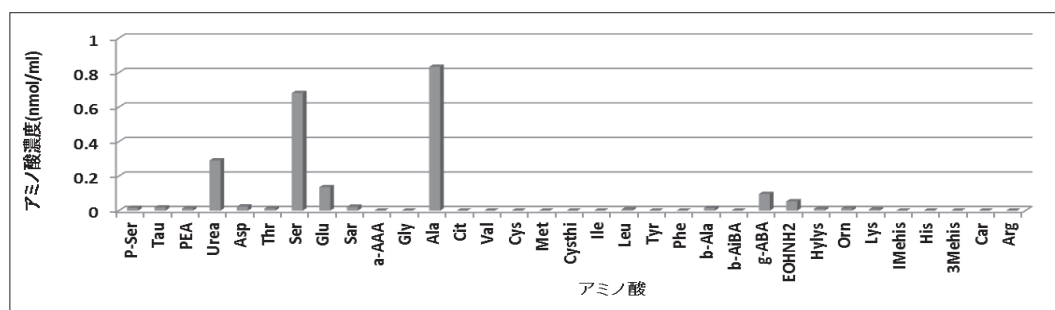


図-1 CF①のアミノ酸組成

CF①の構成成分にアミノ酸を含むことから、L-8900形高速アミノ酸分析計アミノ酸アナライザーによるアミノ酸分析を行った (図-1)。その結果 CF①に含まれる全アミノ酸は 6 種類で、Ala, Ser, Urea, Glu, γ -ABA, EOHNH₂ がそれぞれの含有量は 0.054, 0.834, 0.682, 0.291, 0.136, 0.096 mmol ml⁻¹ の濃度であった。Ala 及び Ser が全アミノ酸量の 74.2% を占めることから、CF①のアミノ酸としての特性はこの両者の特性に類似すると推測される。

CF①の構成成分としてのステビオサイドの確認を PPC により行った (図-2)。発色対照としてのグルコース Rf 値は 0.381, 対照の 1%ステビオサイド Rf 値は 0.28 であったが、20%CF①は起点での白色スポットも消え、展開した形跡も見られなかった。これらの結果から CF①の構成物質としてのステビオサイドは否定された。しかし FARM-A はステビオサイドを有するステビア粉末を熱水で抽出し、25℃で 1 年間発酵させた熱水抽出発酵液であることから、CF①の糖の

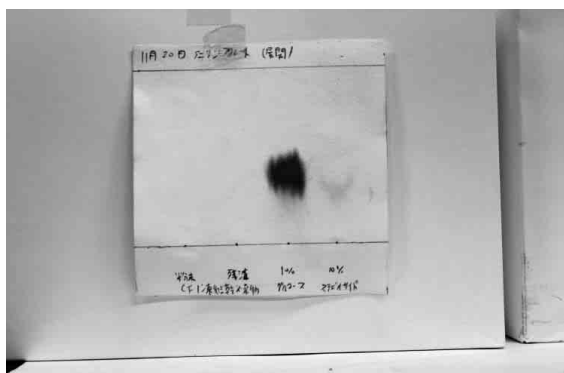


図-2 PPC展開後のアニリンフタレートによる発色結果
左端から20%CF①, CF①乾燥粉末残渣, 1%グルコース, 1%ステビオサイド

構成物質の可能性として、ステビオサイドが分解され、グルコースが外れたステビオール（又はその分解物）とも考えられる。

FARM-A を含むステビア熱水抽出発酵液から3種類の乳酸菌が分離されていることから、CF①のL-乳酸濃度を測定した結果、 $7.34 \pm 0.39\%$ で存在が確認された。またステビア熱水抽出発酵液由来の乳酸菌はDL体乳酸菌であるので、DL乳酸含有量はL-乳酸含有量の2倍と推定するとDL乳酸量は最大 $14.68 \pm 0.78\%$ と示唆された。

CF①の主たる構成成分のKの解離状態を調べるためにCF①乾燥粉末の全K及び K^+ 濃度を測定した結果、全K量は 250mg/g (2.5%)、 K^+ 濃度は 239.58mg/g (2.4%) となり、CF①の全Kの95.8%が K^+ であることが判明した。またCF①の構成成分解析結果より、CF①構成物質の中でCF①の K^+ とイオンペアを組む最も有力な酸性物質は乳酸と考えられる。

CF①のNaCl添加によるKの動向

1. 同濃度NaCl添加CF①の透析処理による透析膜内外のK量変化

CF① (K濃度: 0.57%) 及び0.57%NaCl添加CF①を透析膜 (Spectra/Por, Spectrum MW: 100-500) を用いた透析処理により分画された各画分のK量をCF①のK量と比較した (図-3)。透析処理済みのCF①はCF①画分と名称した。CF①のK量を100%とし、0.57%NaClを添加したCF①+0.57%NaClのK量も104.37%となり、添加NaClのK総量に対する影響は見られなかった。分子量500以上の物質を含むCF①画分のCF①画分内液のK量は35.03%、分子量500以

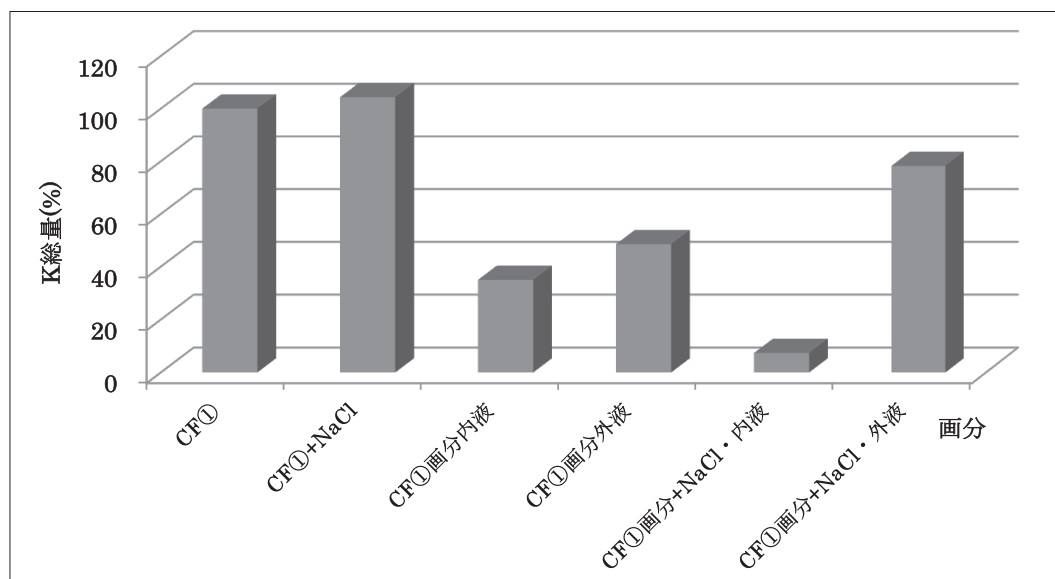


図-3 同濃度NaCl添加CF①の透析処理による各画分のKの相対量

下を含む CF①画分外液の K 量は48.56%となった。この CF①に0.57%NaCl を添加して同様の透析処理を行った結果、CF①画分+NaCl・内液の K 量は7.34%に減少し、CF①画分+NaCl・外液の K 量は78.27%に増加した。これらの結果から、本透析条件で CF①画分内液の K 量は Na⁺添加により20.97%にまで減少し、且つ CF①画分外液の K 量に対して1.61倍に上昇した。同濃度 NaCl 添加は CF①中の K⁺の透析膜外への放出を高めることが明らかになった。

2. 添加 Na⁺と透析膜外に放出される CF①K との量的関係

表-2 CF①の K 濃度 (0.57%) の NaCl 添加による透析処理後の透析内液での K 量変化

添加NaCl濃度(%)	添加Naのモル数 ($\times 10^{-3}$)	透析内液Kの 変化量(mg)	透析内液Kの変化 モル数($\times 10^{-3}$)	添加Naモル数/放出されるKの モル数
0.000	0.000	0	0.0000	0.00
0.570	0.491	-4.448	-0.11	4.31
0.855	0.738	-5.224	-0.13	5.53
1.140	0.986	-8.317	-0.21	4.64

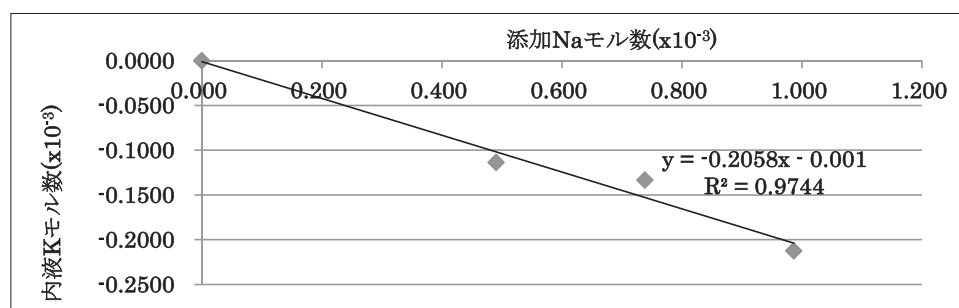


図-4 添加 NaCl の濃度増加に伴う CF①画分内液の K 量変化

表-3 CF①画分の K 濃度 (0.57%) の NaCl 添加による透析処理後の透析外液での K 総量変化

添加NaCl濃度(%)	添加Naのモル数 ($\times 10^{-3}$)	透析外液kの 変化量(mg)	透析外液Kの変化 モル数($\times 10^{-3}$)	添加Naモル数/放出されるKの モル数
0.000	0.000	0.00	0.00	0.00
0.570	0.491	2.06	0.05	9.31
0.855	0.738	5.83	0.15	4.95
1.140	0.986	8.70	0.22	4.43

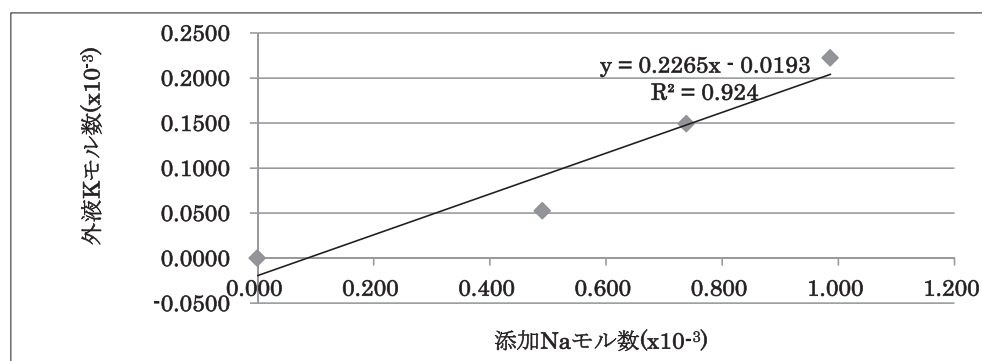


図-5 添加 Na 濃度増加に伴う CF①画分外液の K 量変化

NaCl添加がCF①Kの透析膜内の減少及び膜内への放出を高めることから、添加Naにより膜外に放出されるKと添加Na⁺の量的関係を調べた。CF①(K濃度0.57%)に対して同濃度のNaCl(0.57%)及びその濃度の1.5倍(0.855%)、2.0倍(1.14%)濃度のNaClを添加し、透析膜(Spectra/Por,Spectrum MW:100-500)を用いた透析処理により分画された各条件での透析内液(表-2, 図-4)及び透析外液(表-3, 図-5)のKの物質量を比較した。透析内液(表-2, 図-4)の結果、添加Na⁺モル数の増加に伴い透析内液のKモル数は直線的に減少し、下記式が得られた。

$$y = -0.2058x - 0.001 \quad R^2 = 0.9744$$

(y:透析内液から放出されるK mmol x:添加Na⁺ mmol) (1)式

(1)式より、1モルNa⁺により0.2058モルのKが透析膜内から膜外に放出される。また表-2より1モルのKを膜外に放出させるために必要な添加Na⁺(減少Kモルに対する添加Na⁺モル)は4.83±0.36モルとなった。

透析外液では透析内液とは正反対の結果が得られ(表-3, 図-5)、添加Na⁺モル数の増加に伴い透析外液のKモル数は直線的に増加し、下記の式が得られた。

$$y = 0.2265x - 0.0193 \quad R^2 = 0.924$$

(y:透析外液のK mmol x:添加Na⁺ mmol) (2)式

(2)式より、1モルのNa⁺により透析膜外のKが0.2265モル増加する。この結果は上記透析膜内の結果「1モルNa⁺により0.2058モルのK⁺が透析膜内から膜外に放出される」に近似し、信頼性の高い結果が得られた。また表-3より膜外に1モルのKを増やすために必要な添加Na⁺(増加K⁺モルに対する添加Na⁺モル)は6.23±1.55モルとなり、上記透析膜内の結果「(減少Kモルに対する添加Na⁺モル)は4.83±0.36モル」との相違が生じた。この原因としてR²=0.924が上げられるが、(2)式の計算から、膜外に1モルのKを増やすために必要な添加Na⁺(増加K⁺モルに対する添加Na⁺モル)は4.42モルとなり、析膜内の結果と近似した。これらの結果から、CF①KはNa⁺により透析膜内から膜外への移動が促進され、その比率(Na/K)は移動率(1モルKを移動させるNa⁺モル数)と考えられ、これをNa移動率とする。FARM-Aを塩害水田に散布すれば、FARM-AのK(CF①K)が塩害水田のNa⁺により移動が促進され、その結果、植物体へのK肥料として吸収される。

本研究の背景となった宮城県石巻市蛇田地区の塩害水田でのステビア農業資材の塩害低減効果の検証実験でもFARM-Aを散布し、その結果ステビア農業資材試験区のひとめぼれ(使用苗品種)の例年以上の生育が確認されている。作付け時期の1反(土壤塩分濃度:1.5%)中のNa⁺は最小値でも2546モルと推測される。この数値を上記結果のNa移動率(Na/K)に代入して計算すると、2546モルNa⁺が移動させるKは576モルとなる。当時散布したFARM-A由来のKは0.95モルであったので、このKはNa⁺により十分に移動可能となり、その結果全稲へのK肥料として吸収され、塩害を克服したと考えられる。

CF①のCsCl添加によるKの動向

添加Cs⁺と透析膜外に放出されるCF①Kとの量的関係

東京電力福島第一原子力発電所の事故による放射線汚染の原因ともなったCsは、K及びNaと原子周期表で同族の第1属原子である。添加NaClとCF①Kの透析膜内の減少及び膜外への増加に比例関係があることから、Csにも同様な効果が期待される。Naと類似の透析法を用いて、添加Cs⁺により膜外に放出されるKと添加Cs⁺の量的関係を調べた。その結果、CF①K濃度のn(整数)倍濃度CsCl添加透析処理後の外液K量と添加Cs⁺濃度にNa⁺と同様な相関関係

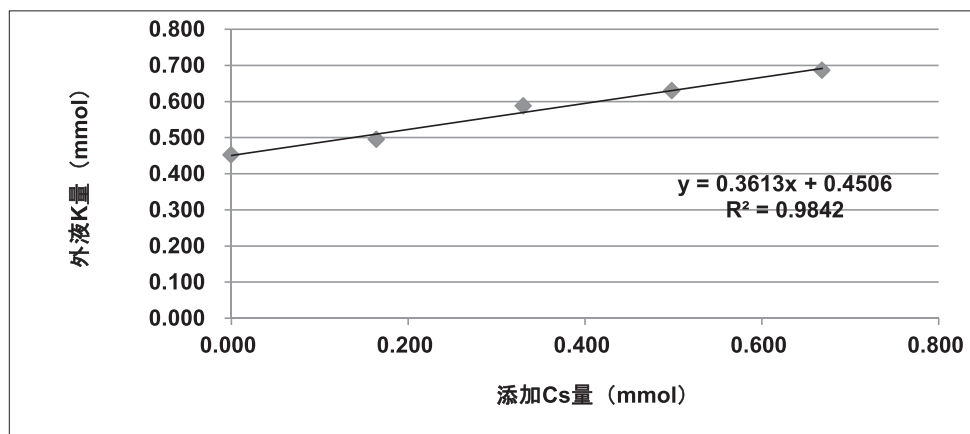


図-6 添加 Cs 濃度増加に伴う CF①画分外液の K 量変化

が得られた (図-6)。添加 Cs⁺モル数の増加に伴い透析膜外液の K モル数は直線的に増加し、下記式が得られた。

$$y = 0.3613x + 0.4506 \quad R^2 = 0.9847$$

(y : 透析膜外 K mmol x : Cs 添加 mmol) (3) 式

(3) 式より、1モルの Cs⁺により透析膜外の K が0.3613モル増加する。また1モルの K を膜外に放出させるために必要な添加 Cs⁺ (増加 K モルに対する添加 Cs⁺モル) は2.77モル (Cs 移動率) となった。この Cs 移動率は Na 移動率の62.7%となり、Cs による K の移動効果は Na より低下することが判明した。これらの結果から CF①K は Na⁺同様、Cs⁺によっても移動が促進されるが、その効果は Na⁺より低く、また本研究では蒸留水 (水) に対しての K の移動のため、放射性 Cs に汚染された水田での作物に対する除染効果が期待される。

要 約

2011年5月宮城県石巻市蛇田地区の塩害水田に甘味料ステビアの原料である *Stevia rebaudiana* Bertoni の茎を利用したステビア農業資材を施用した結果、水稻の生育を確認した。またこれら施肥による福島県南相馬市での放射性 Cs 汚染地区での線量減少が認められた⁸⁾。しかしステビア農業資材には上記除塩、除染効果が確認されながら、この効果のメカニズムは未解明である。本研究ではステビア農業資材の上記除塩効果のメカニズム解析とし、ステビア農業資材の中でも特に効果が見られた“ステビア熱水抽出発酵液 (FARM-A)”に着目し、含有量の高い K 画分を分画し、更に K 画分の構成成分を把握した上で、K の Na⁺ Cs⁺存在下の挙動について検討した。

FARM-A を活性炭素カラムにより分画された K 画分を CF①とし、この CF①の K の解離性を調べた結果、K は全てイオン化された K⁺であった。CF①の K⁺のイオンペア探索ため、CF①の K 以外の構成成分の解析を行い、その結果、イオンペアには該当しないが非還元性でアルドース型のステビオサイドに類する糖と、微量であるが、全アミノ酸量の74.2%を占める脂肪族アミノ酸 (Ala 及び Ser) が確認された。イオンペアの可能性が高い物質として、L-乳酸 (7.34 ± 0.39%) の存在を確認した。このような環境に存在する CF①K⁺は透析膜 Spectra/Por, Spectrum MW : 100-500) を用いた実験により、Na 移動率 (透析膜外に1モルの K を増やすために

必要な添加Na⁺)は4.42, Cs移動率(1モルのKを膜外に放出させるために必要な添加Cs⁺)は2.77となり, Csより透析膜外に放出されるCF①KはNaの62.7%になることが明らかになった. 本研究の結果から, Na⁺及びCs⁺の存在により, FARM-Aのカリ肥料ともなるKの移動が活発になると考えられる. よって塩害でのNa⁺や放射性CsによりFARM-AのKが活発に動き, 植物体へ近づくことが可能となり, 植物へのカリ肥料として利用される. またKの移動に対する効果はNa移動率がCs移動率より1.56倍高いことから, 本研究が蒸留水に対するKの移動であるのため, 塩害水田に於いての除塩の効果が高いと示唆された.

参考文献

- 1) Keiko Okamoto, Sumika Yamaguchi, Naohiko Sato “Effects of a Fermented Hot-Water Extract of *Stevia Rebaudiana* Bertoni on Rooting under in vitro Stress Conditions” 別府大学大学院紀要 第17号 37-50 2015
- 2) 増田勇一郎, 岡本啓湖, 木村新太郎 “原料別ステビア堆肥施肥による収穫さつま芋(鳴門金時)の総個数・重量に対する影響” 日本作物学会記事 第223回講演要旨・資料集 158-159 2007
- 3) 古藤康太郎, 野瀬毅, 岡本啓湖, 木村臣佑 “ステビア熱水抽出発酵液由来乳酸菌の農業減少効果” 第58回日本生物工学会大会講演要旨集 60 2006
- 4) Keiko Okamoto, Naohiko Sato
“Isolation, Identification and Characterization of Effective Bacteria on Bioremediation from the Waste Parts of *Stevia rebaudiana* Berutoni” Enzyme and Microbial Technology 39 407-413 2006
- 5) 堤義備, 岡本啓湖 “ステビア粉末からの硝酸還元性高温菌の分離・同定” 日本農芸化学会 2007年度 中四国・西日本支部合同大会講演要旨集 63 2007
- 6) 中川原健一, 岡本啓湖, 木村新太郎 “Enterobacteriaceae科細菌の硝酸還元に関する研究” 日本微生物生態学会22回大会 講演要旨集 267 2006
- 7) 塩塚一浩, 岡本啓湖, 木村新太郎 “ステビア粉末の硝酸還元性” 日本生物工学会九州支部大会(第17回) 講演要旨集 2010
- 8) Takeo Yamakawa, Naotaka Yamada, Yukio Nishi, Keiko Okamoto
[Decontamination of radioactive cesium by stevia fermented product in Fukushima broccoli cultivation field] 13th ICOBTE (Fukuoka city), 2015年7月

謝 辞

本研究は「ステビア農業資材の塩害水田に対する土壌修復効果とそのメカニズムの探索」と題して, 「平成23年度第2回研究成果展開事業 研究成果最適展開支援プログラムフェージビリティスタディ【FS】ステージ探索タイプ」のJST事業に採択され, その助成金により行いました. 更に同事業「平成26年度復興促進プログラム(マッチング促進) / 研究成果最適展開支援プログラム(A-STEP)ハイリスク挑戦タイプ(復興促進型)」に採択され, その助成金により行いました. 研究に御協力して頂きましたそうま農業協同組合の西幸夫様, ステビア農業資材を提供して頂きました(株)ピーアンドエルの木村新太郎様に深く感謝申し上げます.