

令和 4 年 6 月 15 日現在

機関番号：34428

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2021

課題番号：17K01053

研究課題名(和文)水質浄化に関するバイオ・リテラシー教材の開発

研究課題名(英文)Development of a bio-literacy teaching material for environmental education

研究代表者

尾山 廣(Oyama, Hiroshi)

摂南大学・理工学部・教授

研究者番号：50221700

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：モリンガ種子に含まれる水質浄化に関わるタンパク質を用いて、バイオ・リテラシー用の教材を開発した。実験系 I では、モリンガ種子粉末が人工汚染水を浄化できることを理解できる。この実験教材は、小・中学生の探求学習に適すと考えられた。実験系 II では、プロテアーゼ処理、加熱処理、等電点分画などの実験結果を通じて、目的タンパク質の物性を明らかにする。さらに、陽イオン交換樹脂に吸着したタンパク質の溶出パターンやSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動分析の結果から、ジスルフィド結合で結ばれたヘテロ二量体の塩基性タンパク質であると考察できる。この実験教材は、高校生の環境教育用の探求教材として有用と考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

モリンガ種子タンパク質を用いたバイオ・リテラシー教材は、水質悪化の要因を理解する契機になるのみならず、水質浄化を支えるバイオ科学、コロイド・吸着化学を学習する導入教材となる。具体的には、モリンガ種子を教材化することにより、浄水場での凝集・沈殿剤の処理工程が再現できることから、水質環境についての認識が生まれる。土壌コロイドを取り扱うことから、コロイド化学・吸着材料化学の導入教材になる。植物による環境浄化を図る新規開拓分野を知る契機となる。タンパク質化学の理解が深まり、タンパク質機能の多様性を知ることができる。よって、環境に関わる総合的な学習の教材として役立つものと期待される。

研究成果の概要(英文)：Materials for bio-literacy education were developed by using a turbid water purification protein (Moringa flocculating protein: MFP) contained in Moringa seeds.

In the experimental system I, it learns that Moringa seed powder can purify artificial polluted water. This experimental material was considered to be broadly applicable to inquiry-based learning to elementary and junior high-school students.

In the experimental system II, the physicochemical properties of MFP are clarified through experimental results of proteinase degradation, heat treatment, and isoelectric fractionation. Furthermore, from the elution pattern of adsorbed MFP on a cation exchange resin and the results of SDS-polyacrylamide gel electrophoresis analysis, it makes students notice a heterodimeric basic protein linked by disulfide bonds. This experimental material was thought to be useful for environmental education, especially inquiry-based learning, of high school students.

研究分野：科学教育

キーワード：熱帯植物 種子 タンパク質 探求課題 総合的な学習 人工汚染水 浄水メカニズム 環境教育

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

水質に関する環境教育として、小学校では、くらしと水、生活環境を守る取り組みや生活排水の影響を学習し、浄水場の社会見学も行われている。中・高校では、水をきれいにする仕組みとして、微生物の働きを学習し、フィールドでの生物観察や環境分析、コロイド科学、生物や化学物質を利用した水質浄化など、自由研究の課題も含めて多くの関連項目が配置されている。これらの学習内容は「植物・微生物・水生小動物などの多様な生物群による水質浄化(Bioremediation)」として捉える事ができる。

近年、大気、水質、土壌汚染の悪化が進行し、次世代への影響が懸念され、人類が直面している重大な危機であると言われている。この環境悪化の時代状況に接し、これまで「植物による環境浄化(Phytoremediation)」に取り組んできた。そのひとつであるモリンガ(和名:ワサビノキ、*Moringa oleifera*)は、熱帯・亜熱帯地域に広く分布し、これら地域では生活に密着した多目的資源植物である(文献)。この種子成分には、土壌粒子コロイドを凝集・沈殿させる水質浄化機能を有するタンパク質が含まれている(文献)。モリンガ種子は、浄水場で使用されているポリ塩化アルミニウムと同等の浄化能力を持ち、短時間に土壌粒子の凝集沈殿を起こすことができる。浄水システムを教材化する際に、アルミニウムや高分子化合物は、安全性・生分解性が問題視されており、実験材料として利用することは難しい。一方、モリンガは植物起源であり、限られた授業時間内で濁水が清澄化するプロセスを実験室内で観察できるため、沈殿污泥を堆肥に利用可能な安全性が確保された“教材に適した”実験材料となる。

2. 研究の目的

モリンガの種子成分には、土壌粒子コロイドを凝集・沈殿させる水質浄化機能があり、その本体がヘテロ二量体の塩基性タンパク質(12-kDa)であることを明らかにした。この研究成果を基に、「植物素材を用いて、河川水に含まれる汚濁物を凝集・沈殿・吸着過程を経て除去する仕組み」が理解できる種々の実験教材を開発する。初等・前期中等教育レベル(実験系)では、モリンガ種子破砕物を利用した水質浄化を体得し、後期中等・高等教育レベル(実験系)では、モリンガ種子タンパク質の浄化機能の解析と浄化メカニズムの原理を知る教材メニューに焦点をあてる。本研究では、水質浄化の科学的アプローチに基づくバイオ・リテラシー教育に最適な新しい環境教育用の教材、即ちこれまで各学年で個別のかつバラバラに提示されていた教材ではなく、モリンガ種子を用いた体系的・統合的な水質浄化教材を提案することが目的である。

3. 研究の方法

(1) 脱脂粉末とその抽出液の調製:モリンガ種子を剥皮し、乳鉢とすり鉢で粉末にした。アセトンを加え、室温で攪拌後、アセトンを除いた。抽出液は、脱脂粉末をリン酸バッファー(pH7.1)に懸濁し、残渣を除いたものを用いた。(2) 濁水浄化活性の測定:人工土壌コロイド溶液には、陶芸用の泥水またはカオリン懸濁液を使用した。試料を添加した人工土壌コロイド溶液の濁度変化を目視または吸光度値で評価した。(3) 色素汚染水の凝集・沈殿:脱脂粉末と色素汚染水を試験管内で混合し、経時的に上清をサンプリングし、各色素汚染水の吸光度値を測定した。(4) 銅汚染水と大腸菌汚染水の浄化試験:硫酸銅水溶液に脱脂粉末を添加後、水溶液の銅イオン濃度を測定し、除去率を算出した。大腸菌を含む溶液に脱脂粉末を添加後、溶液の吸光度値を測定した。(5) タンパク質分解酵素処理:抽出液にプロテアーゼ溶液を添加し、37℃で1時間加熱後の濁水浄化活性を測定した。(6) 加熱処理:抽出液を各温度(40℃~100℃)で加熱後、濁水浄化活性を測定した。(7) 等電点分画:抽出液のpH

が 4~10 となるように調整し、氷上で冷却した。遠心分離後の沈殿物をリン酸バッファー (pH7.1) に溶解し、濁水浄化活性を測定した。(8) 陽イオン交換(CM)樹脂による分画：リン酸緩衝液(pH 7.1)で平衡化した CM 樹脂と抽出液を混合し、目的タンパク質を吸着させた後、0 M~1.0 M の NaCl を含む緩衝液で溶出させた画分の濁水浄化活性を測定した。

4 . 研究成果

脱脂粉末を用いた「人工汚染水の浄化実験(実験系)」では、人工土壌コロイド溶液、色素汚染水および大腸菌汚染水の浄化試験、抽出液の調製、加熱処理とタンパク質分解酵素処理の実験を行う。これらの結果から、種子内のどの成分に水質浄化作用があるのかを推察する。抽出液を用いた「濁水浄化タンパク質の探索(実験系)」では、抽出液に含まれる水質浄化成分の本体を、等電点分画や陽イオン交換(CM)樹脂による精製、電気泳動による分子構造の結果から、ヘテロ二量体の耐熱性の塩基性タンパク質(12-kDa)であると考察する。

人工汚染水の浄化実験(実験系)

人工土壌コロイド溶液に脱脂粉末を添加すると、土壌粒子の凝集が始まり、経時的に凝集塊の形成と沈殿が生じて、やがて清浄化した。色素汚染水でも同様に清浄化されたが、クチナシ系色素の凝集・沈殿速度は遅かった。大腸菌汚染水では、添加2日後に大部分の菌体が沈殿し、除去された。銅汚染水では、添加後3時間で銅イオンの85%以上が沈殿し、除去された。よって、モリンガ種子粉末には水質汚染物である土壌粒子、色素、大腸菌および銅イオンを凝集・沈殿させる活性があり、浄化プロセスが目視できるため、視覚的に分かりやすい。また、凝集・沈殿速度の差から色素の化学構造の違いも推察できる。

濁水浄化タンパク質の探索(実験系)

抽出液を加熱すると、温度上昇に伴ってタンパク質の変性が観察されたが、100 °Cでも濁水浄化活性は維持された。一方、タンパク質分解酵素処理を行うと、活性は消失した。等電点分画では、アルカリ域で沈殿した画分には濁水浄化活性があり、pH 10 の沈殿に最も強い活性が認められた。CM 樹脂による分画では、1.0 M NaCl で溶出された画分に強い濁水浄化活性が検出された。さらに、SDS-PAGE 分析の結果では、分子量 6.5-kDa と 4.5-kDa のタンパク質バンドが検出された。よって、濁水浄化活性の本体は、熱に安定な、ヘテロ二量体の塩基性タンパク質であることが考察できる。これらの実験から、コロイド粒子の表面電荷が中和されることにより、粒子同士が結合しフロックが形成されて沈降する様子が観察できると共に、アミノ酸の構造と電荷、耐熱性などのタンパク質の多様性を学ぶことができる。

本研究課題で開発した実験系の特徴を以下に列挙する： 種子由来の浄化成分のため、安全である、水質汚染物(泥、染料、細菌、重金属イオン)の除去が可視化できると同時に、水道水ができる浄化過程が教室で再現できる、汚染水は人工的に調製したものであり、河川水などの天然汚染水より衛生的かつ安全である、種子の浄化成分の探求が可能であり、タンパク質の性質を調べる材料になる、実験系 は、小・中学校での環境学習教材として取り入れることができる、実験系 は、高校化学・生物を組合せた内容であり、探求学習の素材になる、学習到達度レベルと実験室の機器や器具に応じて、実験項目を選択し、水環境の保全を学ぶ教材になる。

<引用文献>

尾山 廣・杉村 順夫・山 和孝、ワサビノキ(モリンガ)の種子・葉に含まれる有用成分とその多目的利用、熱帯農業研究、9巻、2016、41 - 51

榎谷 滉・尾山 廣・杉村 順夫、モリンガ種子に含まれる多機能性タンパク質、日本農芸化学会 2016 年度大会(2016年3月30日・札幌)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 0件／うち国際学会 0件）

1. 発表者名 鍋島優夏、尾山 廣、森本弘一、杉村順夫
2. 発表標題 水環境の保全を学ぶ教材開発 - 水を浄化するモデル実験系の構築 -
3. 学会等名 日本理科教育学会 第70回全国大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 鍋島優夏、尾山 廣、森本弘一、杉村順夫
2. 発表標題 モリンガを用いた水質浄化教材の開発 - 授業実践に向けた実験内容の改良 -
3. 学会等名 日本理科教育学会近畿支部大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 コンジェ ワナングワ、森本弘一、杉村順夫、阿座上千聖、尾山 廣
2. 発表標題 Water purification by moringa, a tropical plant I. Clarification of turbid water by the seed extract
3. 学会等名 日本理科教育学会近畿支部大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 阿座上千聖、鍋島優夏、尾山 廣、コンジェ ワナングワ、森本弘一、杉村順夫
2. 発表標題 モリンガによる水質浄化 II. 種子に含まれる濁水浄化タンパク質の性質
3. 学会等名 日本理科教育学会近畿支部大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 尾山 廣、阿座上千聖、鍋島優夏、森本弘一、杉村順夫
2. 発表標題 モリンガ種子タンパク質の浄化機能解析 - 発展レベルの教材開発の試み -
3. 学会等名 日本生物教育学会第103回全国大会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

摂南大学理工学部生命科学科生体分子機能学研究室 https://www.setsunan.ac.jp/~bio/characteristics/labo/oyama.html 「モリンガ種子で濁水を『きれいな水』に浄化する 水質浄化成分の本体を見つけ出す」 https://www.setsunan.ac.jp/kenkyu/shien/news/detail.html?id=5085 関西SDGsプラットフォーム・共育分科会「水質浄化シャンプー」 https://www.u-presscenter.jp/article/post-46715.html 摂南大学研究者総覧 https://gyoseki.setsunan.ac.jp/html/100001067_ja.html

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
---------	---------