

REHSE「高校生による環境安全とリスクに関する自主研究活動支援事業」

2022年度 研究活動報告書

身近な植物に含まれるタンニンの性質とその利用

国立大学法人奈良国立大学機構奈良女子大学附属中等教育学校
サイエンス研究会化学班・タンニン研究チーム

1. 背景・目的

様々な植物に含まれるタンニン類は、古くから食品、染色剤、塗料、樹脂などに利用されてきた。また、タンニンには重金属イオンと結合して不溶性物質を形成する性質もある。水中に存在する重金属イオンは公害等の環境問題にもつながり、持続可能な開発目標（SDGs）にも示される「安全な水」の確保の観点からも問題視されている。植物中に含まれるタンニンは、構造中のヒドロキシ基に重金属イオンが配位（結合）するため、重金属イオンの捕集材として用いることができる。そこで、タンニンの種類の違いによる水中の重金属イオンの捕集効果について比較検討する。また、地域の特産物である「大和茶」「柿」についても検証し、地域活性化の可能性について考える。

2. 活動の内容

2. 1 出前講義

①日時：2022年4月27日(水)、5月18日(水)、6月15日(水)16:30～17:30

場所：本校化学教室（Zoom ミーティング）

内容：日経 STEAM シンポジウムに向けた SDGs 学習。参加した高校生が自分たちの学校で取り組んでいる SDGs に関する活動について、互いに紹介したり、SDGs をテーマとした私たちが取り組める活動のアイデアを出し合ったりすることで、交流することができた。

講師：宮野公樹先生（京都大学学際融合教育研究推進センター准教授）

②日時：2022年10月5日(水) 14:50～15:50

場所：本校化学教室（Zoom ミーティング）

内容：9月までに行った REHSE 研究の報告。研究手法についてのアドバイスを頂いた。実験の安全について学習した。

講師：富田賢吾先生（名古屋大学教授・REHSE メンター）

2. 2 見学

①日時：2022年7月28日(火)10:00～16:30

場所：大阪国際会議場・グランキューブ大阪（大阪市）

目的：日経 STEAM シンポジウム参加。高校生や大学生の研究発表から、発表の仕方や研究のヒントを得た。また、企業・大学のブースを見学・体験した。

他に、10月下旬の修学旅行（九州）の際にスーパーや売店などでタンニン・ポリフェノールが含まれていそうな食品・農産物について調査した。また、カキの品種について、書籍や園芸高校の先生へのインタビューにより調査した。

2. 3 その他の活動

サイエンス研究会化学班の他のグループが、まほろばサイエンスフェスティバル（11月）、日本薬学会メディシナルケミストリーシンポジウム（11月）、Japan Super Science Fair (JSSF) 2022（11月）、第66回日本学生科学賞（12月、入選二等）、奈良女子大学サイエンスコロキウム（12月、奨励賞）、第39回日本化学会近畿支部中学校・高等学校化学研究発表会（12月、奨励賞4件）、第11回大気環境学会近畿支部研究発表会（12月、支部長賞）、集まれ！理系女子第14回女子生徒による科学研究発表交流会（1月）等の発表会に参加した。

また、2つのグループが①Kamnoetvidya Science Academy School (KVIS, タイ) および福島県立安積高等学校、②Princess Chulabhorn Science High School Loei 校 (PCSHS Loei, タイ) とそれぞれ国際共同課題研究に取り組んでいる。

3. 研究の成果

タンニンとはベンゼン環に多数のヒドロキシ基が結合した化合物の総称で、植物中に含まれるポリフェノールの一種である。これらタンニンは、古くから食品、染色剤、塗料、樹脂などに利用されてきた。タンニンの分子構造中のフェノール性ヒドロキシ基-OHは、重金属イオンに配位することができる。この性質を利用すると、タンニンは重金属イオンの捕集材として期待できる。

2020年度のREHSE研究では、コーヒー殻に含まれるタンニン（主成分はクロロゲン酸）の重金属イオン捕集能を検討した。コーヒー殻をホルマリン（ホルムアルデヒドHCHOの水溶液）と反応させると、コーヒー殻中のクロロゲン酸とホルムアルデヒドとの付加縮合により重合体が生成し、ホルマリン処理前と比べて重金属イオンの捕集能が向上することが明らかになった。そこで、本研究ではコーヒーの代わりに抹茶と紅茶に含まれるタンニンに注目した。これらの茶に含まれるタンニンは種類が異なる（図1）²⁾。私たちは、様々なタンニンの中で分子量が大きい方が、水中の重金属イオンと結合して疎水性の効果により不溶性となり、ろ過により取り除くことができるため、重金属の捕集効果が向上すると考えた。

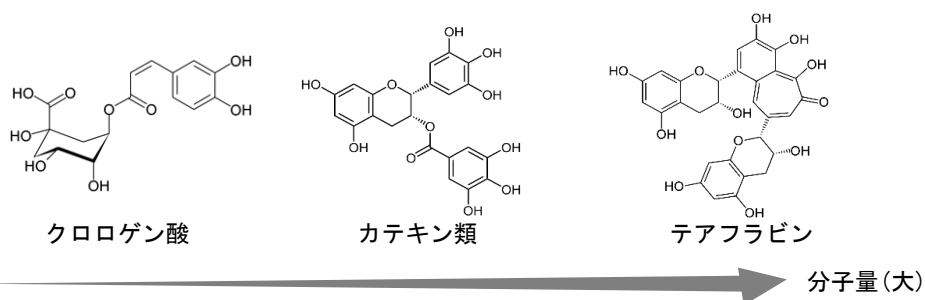


図1. コーヒー(左), 抹茶(中), 紅茶(右)に含まれるタンニン類

(1) 抹茶と紅茶を用いた重金属イオンの捕集実験

抹茶および紅茶は市販のものを用いた。これらの茶は、ミルサー（イワタニ IFM-CR22G）を用いて粉末にしてから実験に用いた。試薬は購入したものをそのまま用いた。

①実験操作

水溶性の総ポリフェノールの定量は、フォーリン・デニス法により行った³⁾。試料の粉末の茶 1.0 g と蒸留水 50 mL を 200 mL 三角フラスコに入れ、水浴中（80℃）で60分間加熱することで、水溶性タンニンを抽出した。室温に冷却後、蒸留水を加えて体積を100 mLとした。ろ紙（アドバンテック No.5A）でろ過後、100倍に希釈し、このうち5.0 mLを遠沈管に入れた。また、検量線作成のために調製した濃度の異なるタンニン酸水

吸光度 (700 nm)

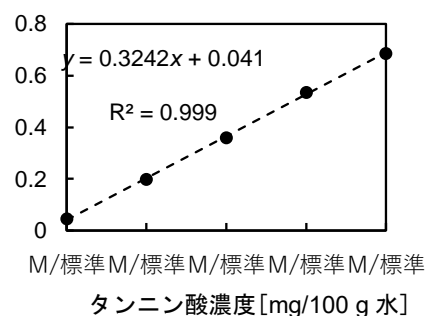


図2. タンニンの定量のための検量線（フォーリン・デニス法による）

溶液も 5.0 mL ずつ測り取り遠沈管に入れた。これらの遠沈管に、フォーリン試薬 5.0 mL を加え 3 分放置後、10%炭酸ナトリウム水溶液 5.0 mL を加え 60 分放置した。遠心分離後、上澄み液を分光光度計により 700 nm の吸光度を測定した。異なる濃度のタンニン酸の測定結果から作成した検量線を用いて、茶から抽出した溶液中のタンニン量を求めた (図 2)。

粉末の茶 0.10 g, 8.0×10^{-2} mol/L 硫酸銅(II)水溶液 5.0 mL, 蒸留水 45.0 mL を 100 mL ビーカーに入れ、室温で 30 分攪拌した (図 3)。セライトを通じて吸引ろ過をして、ろ液にヨウ化カリウムを 0.60 g を加えて 1 分間攪拌した。この溶液中の Cu^{2+} の定量は、ヨウ素滴定法により行った (図 4) ⁴⁾。

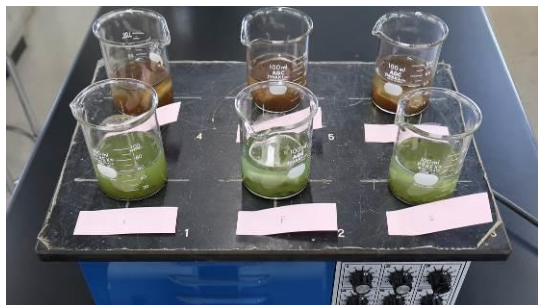


図 3. Cu^{2+} 水溶液に抹茶(または粉末紅茶)を加えて攪拌している様子



図 4. ヨウ素滴定の様子

②結果と考察

抹茶と紅茶から抽出した水溶性タンニンの量をフォーリン・デニス法より求めた結果、それぞれ 1.35 mg/100 g 水, 1.09 mg/100 g 水 (タンニン酸として) となり、これらの値は同程度であった。食品分析表によると「茶葉の可食部 100 g あたり, 抹茶 10.0 g, 紅茶 11.0 g」, また、「浸出液 100 mL (標準的な淹れ方のとき) あたり, 紅茶 0.10 g」とある (抹茶浸出液のデータはない) ⁵⁾。茶類に含まれるタンニン量は、品種や抽出条件によって変わると思われるが、用いた茶のタンニン量は大きく異なることはない。

Cu^{2+} を含む水溶液に粉末の茶 0.10 g を加えて、水中の Cu^{2+} の捕集除去実験を行った。粉末の茶をろ過した後のろ液について、ヨウ素滴定法により水中に残存している Cu^{2+} の物質質量 (N_1 [mol]) を求めた。この物質質量とはじめの水溶液中の Cu^{2+} の物質質量 (N_2 [mol]) とを比較することで、粉末の茶による Cu^{2+} の除去効率[%]を求めた。除去効率[%]は、次式で表した。

$$\text{除去効率}[\%] = (N_2 - N_1) / N_2 \times 100$$

(N_1 : 残存している Cu^{2+} の物質質量[mol], N_2 : はじめの水溶液中の Cu^{2+} の物質質量[mol])

実験の結果、抹茶と紅茶を用いたときの除去効率は、それぞれ 28.0%, 31.0%であり、抹茶と紅茶の Cu^{2+} の捕集効果に大きな違いが無いことが分かった (図 5)。

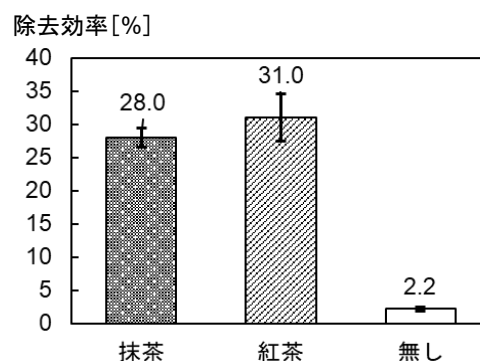


図 5. 抹茶と紅茶の水中の Cu^{2+} 捕集除去効率の比較 (3 回測定 averages)

(2) カキ抽出液を用いた水中の Cu^{2+} の捕集除去

カキは、奈良県橿原市の八百屋で購入した奈良県産の富有（完全甘柿）、甲州百目（近畿では「江戸柿」と呼ぶ。不完全渋柿）を用いた（図6）。柿渋は、染色用の「柿渋液」（田中直染料店）を用いた。

①実験操作

カキ 100 g（乾燥させていない、新鮮なまま）と蒸留水 100 g をミキサーに入れ、粉碎した。この混合物を水浴中（80℃）で 20 分攪拌した。ガーゼで固形物をろ過し、溶液を遠心分離することでカキ抽出液を得た。カキ抽出液 10.0 mL、 8.0×10^{-2} mol/L 硫酸銅(II)水溶液 5.0 mL、蒸留水 45.0 mL を 100 mL ビーカーに入れ、室温で 30 分攪拌した。水溶液中の Cu^{2+} の定量はヨウ素滴定で行った。



図6. 実験で用いた柿
完全甘柿・富有(左), 不完全渋柿・甲州百目(右)

②結果と考察

予備実験として、カキの実をカットした断面に金属塩の水溶液を浸すと、表面が変色した (Cu^{2+} , Fe^{3+} , Pb^{2+} で黒褐色) (図7)。金属塩を含まないときは変色しなかったことから、カキ中に含まれる成分と金属イオンとの反応が起こっていることが分かる。しかし 2 種類のカキ抽出液を用いた水中の Cu^{2+} 捕集実験では、ほとんど捕集できていないことが分かった (5%以下)。一方、市販の柿渋液（染色用）を用いて実験を行うと、20%（柿渋液 0.1 mL 使用）の捕集除去効果が認められた。柿渋液の詳細な成分は不明ではあるが、タンニンが重合した物質が含まれると考えられる。今後、分子量が大きい重合したタンニンの重金属イオンの捕集能の定量的な評価について実験を進めていきたい。

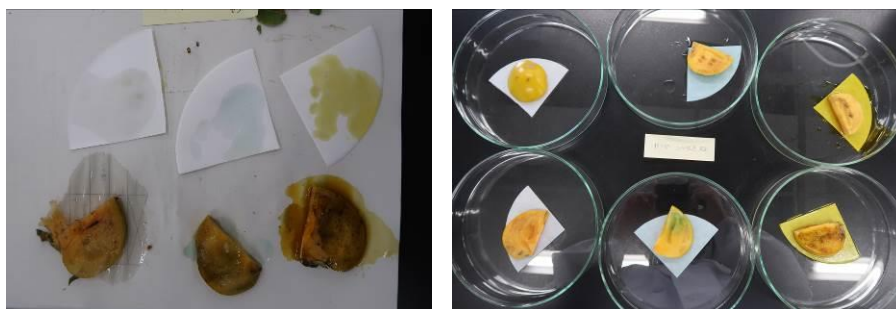
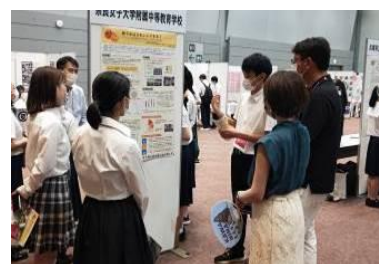


図7. カキの実の断面に金属塩の水溶液を浸す実験の様子

4. 研究の成果の発表

①日時：2022年7月28日(火)

場所：大阪府立国際会議場・グランキューブ大阪（大阪市）
発表の場：日経 STEAM シンポジウム・ポスターセッション
発表題目：「柿で水はきれいにできる？ーカキタンニンの重金属捕集能力を利用した水質浄化に関する研究ー」
発表形態：ポスター発表（対面）



②日時：2022年9月17日(土), 18日(日)

発表の場：奈良女子大学附属中等教育学校 第78回学園祭
場所：本校化学教室
発表題目：「化学展」
発表形態：ポスター発表



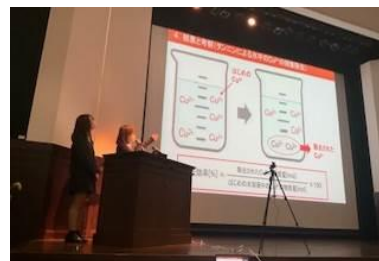
③日時：2022年12月16日(月)

発表の場：日本化学会近畿支部第39回高等学校・中学校化学研究発表会

場所：大阪大学会館（大阪府豊中市）

発表題目：「身近な植物に含まれるタンニンを用いた水中の重金属イオンの回収」

発表形態：口頭発表



④日時：2023年2月18日(土) 予定

発表の場：奈良女子大学附属中等教育学校 生徒探究成果発表会

場所：大和ハウスグループみらい価値共創センターコトクリエ（奈良市）

発表題目：「身近な植物に含まれるタンニンを用いた水中の重金属イオンの回収」

発表形態：口頭発表

5. 「環境安全とリスク」に関する意見と感想

- ・薬品の使い方や化学分析の方法を学ぶことができた。また、一見、迷信だと思われるものでも、身近な現象が化学と関連していることもあり、イメージし易くなった。
- ・過去に起きた水質や土壌、食品などの重金属による汚染・公害などの歴史やその対策について学習することができた。また、人為的なもの以外に自然由来による汚染（自然の岩石や堆積物中の重金属やヒ素、ホウ素やそれらの化合物による環境汚染）もあることを知った。
- ・現在では人体に有害であるとはわかっているが、代替品がないために利用をせざるを得ないという場合もある。今後、研究が進むと、現在は普通に使われている物質が人体に悪影響を及ぼすことが判明し、使用が制限されることもあるだろう。環境に優しい技術などを開発する研究や仕事に興味を持つことができた。

6. 活動の工夫

- ・短い活動時間の中でも、3名で役割分担して研究を進めることができた。Lineのグループを利用して研究の進捗状況や実験計画を常に共有した。
- ・メンターの富田先生より、Zoomによりアドバイスを受けることができた。
- ・実験は複数回行い、結果の比較が行いやすいように条件を設定し直した。再現性あるデータになるよう心掛けた。
- ・新しい研究アイデアを得るために、校内や外部の発表会に積極的に参加した。また、他校の人たちとオンラインによる研究交流を行うことができた。

7. まとめ・今後の課題

渋柿の渋が抜ける仕組みは、渋抜き過程で用いたアルコールがアルデヒドになり、これらと水溶性タンニンとの重合によって不溶性タンニンに変化することによる。これは合成高分子のフェノール樹脂の合成（ホルムアルデヒドを用いる）の仕組みと似ている。有毒な薬品であるホルムアルデヒドを利用せずに、カキの脱渋過程のような仕組みを利用することで、タンニンの重合化や天然由来の重金属捕集材の開発を行っていききたい。

謝辞

本研究は、特定非営利活動法人研究実験施設・環境安全教育研究会「高校生による環境安全とリスクに関する自主研究活動支援事業」の支援を受けています。ありがとうございました。

参考文献

- 1) 木村優, 化学と教育, 1992, 40, 296.
- 2) 村松敬一郎, 茶の科学, 朝倉書店, 1991, pp.115-123.
- 3) 藤田修三, 山田和彦, 食品学実験書第3版, 医歯薬出版, 2017, pp.115-116.
- 4) 松岡雅忠, 化学と教育 2014, 62, 594.
- 5) 日本食品標準成分表 2020年版八訂, 文部科学省科学技術・学術審議会資源調査分科会報告, 2020.