

# 生命の階層性の理解に役立つ化学実験の研究（その1） —ヤブツバキとアジサイの葉を試料として—

船山 智代\* 小畑 謙仁\*\*

## Research on Chemical Experiments for Understanding the Hierarchy of Life (Part 1): Using Leaves of Camellia Japonica and Hydrangea Macrophylla

Tomoyo FUNAYAMA, Kento KOBATA

**要旨** 大学で化学を学ぶ初年次生を対象とし、植物の「葉」を用いて、生命の階層性の理解に役立つ化学実験を作成することを目標に研究を始めた。はじめの検討として、化学反応に耐えるように、クチクラ層が発達しているヤブツバキと、比較としてアジサイの葉を試料に用いて、「組織における生命活動と物質」の関連の理解を目的とした化学実験の作成を試みた。講義及び観察と実験から、①葉が持つ階層性と機能について学ぶと共に、②各層に含まれる分子と、その物性と機能について学んだ上で、①と②の両者を対応させ、生命活動と物質の関連の理解に結びつけることを意図している。今回、呈色反応を用いて葉からの物質検出の予備実験を行い、実験の構成と概要について検討した。実験は、クチクラを除去後、柵状組織の葉緑体から葉緑素を溶出させた後、キサントプロテイン反応、ヨウ素デンプン反応により順次、葉に含まれている代謝物質の検出を試みた。その結果、呈色反応により代謝物質の存在は確認出来たが、今回試みた実験から組織を限定して物質を検出することは難しく、各層と対応させるには場所を限定して物質を検出する工夫が必要と考えられた。今後、物質の局所検出の方法を検討し、組織を起点に階層へと研究を進めたい。

**キーワード**：生命の階層性 化学実験 呈色反応 ヤブツバキ クチクラ

### 1. はじめに

本研究は、本学教育学部理科専修の化学研究室において、2018年度に卒業研究生の小畑<sup>1)</sup>が卒業研究のテーマとして、季節を問わない光合成産物の観察実験教材の作成を目的に、常緑広葉樹であるヤブツバキの葉を用いたヨウ素デンプン反応の観察に取り組んだことが発端になっている。

研究の過程で、ヤブツバキの葉は、クチクラ層が発達し葉肉も厚い為、試薬と反応しにくい反

面、丈夫な為、複数回の反応に耐えて葉の層構造を維持しうるとの感触を得たことから、階層性を取り入れた実験教材としての可能性を感じ、興味を持った。また、ヤブツバキに限らず植物の「葉」は、生命維持に必要な「エネルギー」と「物質」を合成する化学反応が起こる場であることから、生命科学分野の学習において、生命活動と物質の関連について学ぶ為の良い実験教材になると思われた。

そこで、大学で化学を学ぶ初年次生を対象とし、植物の葉を試料に用いて、生命の階層性の理解に役立つ化学実験を作成することを目標に、研

\* ふなやま ともよ 文教大学教育学部学校教育課程理科専修

\*\* こばた けんと 2018年度理科専修卒業生

究することにした。はじめの検討として、本稿では「葉」を試料に用いた「組織における生命活動と物質」の関連の理解を目的とした化学実験の作成を試みた。本実験で用いた化学反応は、既知の反応の組み合わせに依り、葉を媒体に呈色反応を行うことで、葉の内部の各層に含まれる分子を検出し、その物性を層の役割と対応させることにした。

なお、葉を用いた化学反応を試みる際には、クチクラの化学成分の理解が必要であるが、参考書等<sup>2) 3)</sup>はあるが、植物種と対応させた化学成分の報告が少ない<sup>4) 5)</sup>ことから、今回、ヤブツバキとアジサイの葉のクチクラに含まれる物質の質量分析も試みた。試料に含有する物質の分子量の情報は、試料中の化合物の同定と構造解析等に役立つ情報となり有用である。試料中の分子の物性を明確にすることは、試料の教材としての役割を明確にすることに繋がり望ましい。

本稿の2～5章には、葉の階層性を取り入れた化学実験の作成に必要な基礎の実験情報を得る為、行った予備実験とその結果について記した。6章には今回行った実験結果を踏まえ考えた新規の化学実験の内容の構成についてまとめた。

## 2. 実験系の検討

### 2.1 対象とする生命活動の選択

まず実験のテーマである生命活動に何を取り上げるか検討し、生物がもつ共通の生命活動である、生きていく上で必要な物質やエネルギーの合成に関する「代謝」と、遺伝情報に基づいた合成に関する「発現」を、対象とする生命活動とした。

### 2.2 生命活動に関連する物質の選択

葉において代謝に関わる物質として、光合成により生合成され葉緑体などに貯められる同化産物(デンプン：炭水化物)、葉緑体や液胞にあるタンパク質が挙げられた。また遺伝子発現の結果、生成する物質としてはクチクラに含まれる脂質が挙

げられた。「炭水化物」、「タンパク質」、「脂質」は、生体の主たる構成成分である有機物であり、これらは高等学校の化学の教科書<sup>6)</sup>でも取り上げられていることから、実験の対象として適当と考えた。

### 2.3 実験の試料に用いる植物種の選択

実験に用いる植物種は常緑広葉樹のヤブツバキ(図1左)と、比較対象として落葉広葉樹のアジサイ(図1右)を選択した。アジサイは、デンプンを生成する双子葉植物であること、葉肉がヤブツバキより柔らかい落葉樹であることから選択した。



図1 ヤブツバキ(左)とアジサイ(右)

### 2.4 一般的な葉内部の基本構造とその構成成分について

植物の器官は、表皮系、維管束系、基本組織系の3種類の組織系からなる。植物体の表面を覆う表皮系の組織は、1層の表皮細胞からなる表皮で構成されている。表皮細胞はふつう葉緑体をもたず、茎や葉では細胞壁の表面にクチクラとよばれる構造を発達させている。葉の構造は、一般に上面から、ろう成分のクチクラでコーティングされている表面の表皮、葉肉(柵状組織と海綿状組織)、裏面の表皮で構成されている<sup>7)</sup>。クチクラは、生長点の分裂組織の表面を含めて茎や葉の全表面に認められ、成熟した器官ほど発達して厚くなる<sup>8)</sup>。表皮クチクラは疎水性であり、乾燥から

の保護や、病原体や昆虫、紫外線の照射に対する防護のために発達している。クチクラは複数の層を有しており、細胞側からクチン、ワックス（ろう）、多糖類からなる「クチクラ層」、クチンとクチクラ内ワックスからなる「クチクラプロパー」、およびクチクラプロパーを覆う「クチクラ外ワックス」からなるとされる。植物クチクラの主成分の不溶性の高分子クチンは、C16とC18の酸性化された $\omega$ ヒドロキシ脂肪酸とグリセロールからなるポリエステルである<sup>9)</sup>。なお、本稿では、「クチクラ層」、「クチクラプロパー」、「クチクラ外ワックス」を合わせて「クチクラ」と呼ぶ。本研究で用いたヤブツバキとアジサイの葉のクチクラの厚さと層構造の確認の為、最初に葉の切片を作成して光学顕微鏡で観察し、それに基づき実験の方法や手順について検討した。

### 3. 試料および試薬

#### 3.1 試料とする葉の採取

試料のヤブツバキとアジサイの葉は、2018年10月から2019年1月、および2019年9月から同年10月の期間に文教大学越谷キャンパス内で採取した。ヤブツバキは1.2～1.5 m程度の高さにあった日当たりのよい茎の頂芽付近の陽葉を、アジサイはヤブツバキより低木な為、1.1 m前後程度の高さの茎の頂芽付近の陽葉を日中に採取した。また、ヤブツバキは落葉も採取した。採取した葉のサイズは、容積30 mLのサンプル瓶に丸めて入る程度の長さ8～9 cm、最大横幅4 cm前後の大きさのものを選択した。なお、両者の表面積は大よそ同程度（約20 cm<sup>2</sup>前後）のものを選択した。

#### 3.2 試薬

クチクラの染色は、スダンⅢ（東京化成工業株式会社）とエタノール（特級、富士フィルム和光純薬株式会社）を用いた。クチクラの溶解は、クロロホルム（特級、富士フィルム和光純薬株式会社）を用いた。葉緑素の抽出は、エタノール（先と同様）を用いた。タンパク質の検出は、濃硝酸

（質量分率69%）（特級、和光純薬工業株式会社）を用いた。デンプンの検出は、ヨウ素ヨウ化カリウム溶液を用いた。ヨウ素ヨウ化カリウム溶液は、ヨウ化カリウム（特級、富士フィルム和光純薬株式会社）とヨウ素（特級、富士フィルム和光純薬株式会社）を用いて超純水で調整し（4.4.2）、溶液はアルミホイルで遮光して冷蔵保管した。

### 4. 方法

実験は、葉の切片の層構造の観察とクチクラの厚さを測定後、基本的には次の1)から4)の順番に行った。1) 葉のクロロホルム浸漬によるクチクラの溶解と抽出（4.2.1）、および抽出成分の元素分析（4.2.2）、質量分析測定（4.2.3）、赤外吸収スペクトル測定（4.2.4）。2) 葉のエタノール浸漬と煮沸（70℃）による葉緑体成分の溶出（4.3.1）と溶出成分の紫外可視吸収スペクトル測定（4.3.2）。3) 葉への濃硝酸添加によるキサントプロテイン反応の観察（4.4.1）。4) 葉へのヨウ素ヨウ化カリウム溶液の添加によるヨウ素デンプン反応の観察（4.4.2）。具体的な方法を次に記した。

#### 4.1 葉の切片の観察とクチクラの平均厚の算出

スダンⅢ 0.2029 gに70%エタノールを加え溶解させた（5.76 M）溶液を、2時間静置後、ろ過し染色液とした。剃刀によって作成したヤブツバキとアジサイの葉の切片を染色液に1分間浸し、染色した後、光学顕微鏡で観察した（図2）。倍率は、400倍と600倍で観察した。染色した切片のクチクラの厚さは、対物マイクロメーター（1目盛り10  $\mu$ m）を用いて概算した。なおクチクラの厚さの算出方法は、両試料とも各5箇所測り、その平均値を平均厚とした。

#### 4.2 クロロホルム抽出成分の分析

##### 4.2.1 クチクラの溶解と抽出

容積が30 mLのスクリーバイアル瓶に生の葉を入れてクロロホルムを注ぎ、蓋をして温度一定

にして静置した。溶媒は、葉の表面積  $1\text{ cm}^2$  に対して約  $1.5\text{ mL}$  程度の割合で、葉が完全に溶媒に浸るまで加え、1～2晩浸漬させ、ワックス成分を溶解させ抽出した。温度は、 $5\text{ }^\circ\text{C}$ （冷蔵庫）と  $25\text{ }^\circ\text{C}$ （三商インキュベーター SIB-35CP）の2通りで行った。

#### 4.2.2 元素分析

ヤブツバキの生の葉のクロロホルム浸漬 ( $25\text{ }^\circ\text{C}$ ) 後の遊離成分 (図3) の元素分析を、埼玉大学科学分析支援センターに依頼し行った。測定は次によった。測定装置はCHN装置 (Thermo Electron 社製Flash EA1112)、測定方法はCHNコーダー法、キャリアーガスはヘリウム ( $130\text{ mL/min}$ )、助燃ガスは高純度酸素 ( $250\text{ mL/min}$ )、燃焼方式はヘリウムと酸素混合方式、燃焼還元炉の設定温度は  $900\text{ }^\circ\text{C}$ 、カラムオープン温度は  $62\text{ }^\circ\text{C}$ 、熱伝導度検出器は4素子タングステンレニウムフィラメントが用いられた。測定手順は、試料  $1.5\text{ mg}$  を Sn カプセル内に入れて包み、装置に充填した。そして、酸素気流中、 $900\text{ }^\circ\text{C}$  で完全燃焼分解させ、生成したガス ( $\text{N}_2$ ,  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ) を熱伝導検出器 (TCD) で検出した。

#### 4.2.3 質量分析測定

ヤブツバキとアジサイの葉の  $5\text{ }^\circ\text{C}$  と  $25\text{ }^\circ\text{C}$  のクロロホルム抽出後の遊離成分 (図3) の質量分析を、埼玉大学科学分析支援センターに依頼し行った。測定は次によった。測定機器はJEOL JMS 700AM、測定条件はFAB法 (イオン検出、加速電圧は  $10.0\text{ kV}$ 、マトリックスは3-Nitrobenzyl alcohol、質量分解能は1000、検出器は  $0.65\text{ kV}$ 、FABエネルギーは  $4\text{ keV}$ 、 $3.0\text{ mM}$  の標準物質 Ultramark 1621) で行った。測定時間は5分間で、測定直後、3分後、5分後のピークの  $m/z$  値と強度の変化を調べた。

#### 4.2.4 赤外吸収スペクトル測定

ヤブツバキとアジサイの生の葉のクロロホルム

抽出後の遊離成分 (図3) の赤外吸収スペクトル測定を行った。装置はJASCO FT-IR-410 Fourier Transform Infrared Spectrometerを用いた。測定は室温 ( $25\text{ }^\circ\text{C}$ ) で、KBr板を用い  $400\sim 4000\text{ cm}^{-1}$  の領域を測定した。分解能は  $4\text{ cm}^{-1}$ 、積算回数は10回であった。

#### 4.3 エタノール溶出成分の分析

##### 4.3.1 葉緑素の溶出

葉緑素の溶出は、4.2.1のクチクラの溶解・抽出とほぼ同様の方法で行った。異なる点は次の通りであった。溶媒はエタノールを用い、 $5\text{ }^\circ\text{C}$  と  $25\text{ }^\circ\text{C}$  で浸漬させた。生の葉とクロロホルム抽出済みの葉の両方を、各々エタノール浸漬し葉緑素の溶出を試みた。(図4)

##### 4.3.2 紫外可視吸収スペクトル測定

ヤブツバキとアジサイの生の葉をエタノール浸漬させた溶液の紫外可視吸収スペクトル測定を行った。装置は、Shimadzu UV-3100PC UV-VIS-NIR scanning spectrophotometerを用いた。測定は室温 ( $25\text{ }^\circ\text{C}$ ) で、 $1\text{ cm}$  角の石英セルを用い、波長範囲は  $750\sim 300\text{ nm}$ 、 $0.5\text{ nm}$  毎の吸光度を高速スキャンした。スリット幅は  $2.0\text{ nm}$  であった。

#### 4.4 葉肉の含有成分の呈色反応

##### 4.4.1 タンパク質の呈色反応 (キサントプロテイン反応)

4.2.1でクロロホルムに浸漬させた後の葉を脱イオン水で洗浄後、葉肉成分を除く為にエタノールに浸漬させ、葉の色に変化が生じなくなるまで  $70\text{ }^\circ\text{C}$  の湯浴中で加熱した。加熱後、再び脱イオン水で洗浄した。最後にドラフト中で葉全体が浸る程度 ( $1.5\sim 3.0\text{ mL}$ ) 濃硝酸を加え、反応が完全に終了するまで15分程度放置し、呈色反応の様子を観察した。

#### 4.4.2 デンプンの呈色反応（ヨウ素デンプン反応）

ヨウ素ヨウ化カリウム溶液の調整は次のように行った。ヨウ化カリウム10.375 gを少量の超純水で溶かした後、0.079 gのヨウ素を加え、完全に溶解させた。その溶液を超純水で25 mLにメスアップし作成した。この溶液を、4.4.1でキサントプロテイン反応後、水で洗浄した葉に添加し、呈色反応の様子を観察した。

### 5. 結果と考察

#### 5.1 葉の切片の観察とクチクラの平均厚の算出

図2に、スダンⅢで染色したヤブツバキ（上図）とアジサイ（下図）の葉の切片を600倍の倍率で撮影した光学顕微鏡写真を、文献<sup>1)</sup>より引用した。薄いオレンジ色に染まったaがクチクラ、aの下の無色の細胞が横並びになっているb

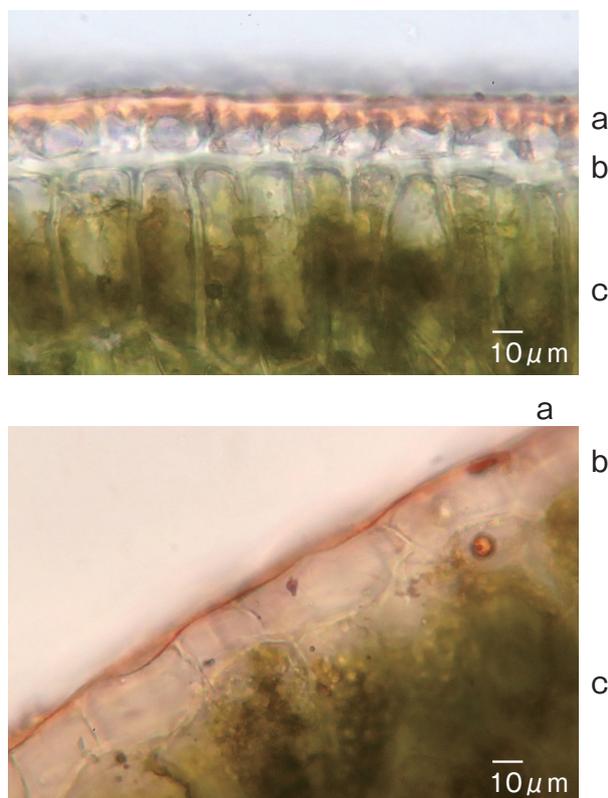


図2 クチクラ層を染色した葉の切片（600倍）

上図：ヤブツバキの葉，下図：アジサイの葉  
（a：クチクラ，b：表皮細胞，c：柵状組織）文献<sup>1)</sup>より引用。

が表皮細胞，bの下の細長い細胞が横並びになっているcが柵状組織である。柵状組織には、緑褐色の葉緑体が含まれている様子が観察された。葉の内部の基本構造は、文献<sup>7)</sup>にあった一般的な構成と同様であった。クチクラの平均厚は、ヤブツバキの葉は $7.0\mu\text{m}$ （中央値 $6.1\mu\text{m}$ ）<sup>1)</sup>，アジサイの葉は $2.2\mu\text{m}$ （中央値 $2.2\mu\text{m}$ ）<sup>1)</sup>であった。ヤブツバキの値は、アジサイの値よりバラツキが大きかった。これは図2より、ヤブツバキの葉のクチクラ層が表皮細胞の領域まで入り込んでいる為と考えられた。大島と光田ら<sup>10)</sup>はシロイナズナの葉のクチクラの厚さが130 nmと記載しており、葉肉が比較的薄いアジサイでも1年草と比較すると約17倍程度厚かった。このことから、葉の表面の状態や硬さが異なる要因の一つとして、クチクラの発達の違いが考えられた。

#### 5.2 クロロホルム抽出成分の分析

##### 5.2.1 元素分析

図3に、生の葉からクロロホルムで抽出した溶液の様子を示した。上層の茶褐色の液体が葉から遊離した成分，下層がクロロホルムである。分析は、ヤブツバキの葉から得た茶褐色の液体（図3左）を用いて行った。その結果、茶褐色の液体は炭素Cと水素Hを含み、窒素Nは含まないことが明らかになった。CとHの元素の比率は、抽出液とクロロホルムの分離が難しく、算出は出来なかった。

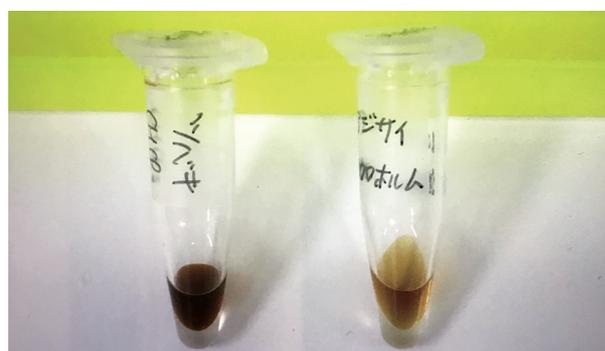


図3 クロロホルム抽出した遊離成分（茶褐色部分）

左：ヤブツバキの葉由来，右：アジサイの葉由来

### 5.2.2 質量分析

質量分析に用いた試料溶液は、元素分析に用いた試料と同様の方法で得た(図3)。分析は、5℃と25℃で抽出した溶液に対して行った。測定結果を表1にまとめた。5℃抽出の場合、溶出し難い成分(m/z 282.3)があったが、各ピークで著しい抽出温度依存はなかった。なお、マトリックス成分のピークが試料に重なって観測されたこと、試料由来と考えられるピーク強度が時間変化を示したことから、各ピーク強度の相対値(%)は算出出来なかった。

m/z	ヤブツバキ	アジサイ	ピークの時間変化
192.1	○	○	増加
282.3	○	○	消失
338.4	○	○	消失
345.1	○	○	増加
429.3	-	○	無し
435.4	○	-	無し
438.4	○	-	無し
498.1	○	○	増加
509.2	○	○	3分後から出現

表1 ヤブツバキとアジサイの葉のクロロホルム抽出溶液(25℃)の質量分析結果のまとめ

○：検出，-：検出されず

表1より、m/zが192.1, 282.3, 338.4, 345.1, 498.1, 509.2は両植物種のクチクラに共通する成分と考えられた。ツバキ油にはオレイン酸が含まれること、元素分析の結果から試料はNを含まないこと、分子量等を考え合わせ、m/z 282.3はオレイン酸( $C_{18}H_{34}O_2$ )であると予想した。また、m/z 338.4はオレイン酸より $CH_2$ が4個多いエルカ酸( $C_{22}H_{42}O_2$ )と予想した。その他のピークについては、現時点において分子種を予想することは出来なかった。

### 5.2.3 赤外吸収スペクトル測定

ヤブツバキとアジサイの葉のクロロホルム抽出後の遊離成分(図3)の赤外吸収スペクトル測定を行った。得たスペクトルは、水のものと同じで

あった。(data not shown) 水は、抽出過程で添加していないことから、葉肉由来のものと考えられた。なお、葉から同一条件で抽出した試料溶液を用いた元素分析(5.2.1)と質量分析(5.2.2)では試料のクチクラ由来と考えられる結果を得たことから、赤外吸収スペクトル測定には、試料溶液の濃度が不足していたと考えられた。

### 5.3 エタノール溶出成分の分析

#### 5.3.1 葉緑素の溶出

生の葉をエタノール浸漬させて10分程度が経つと、アジサイの葉から緑色成分が溶出して底に溜まり、ヤブツバキの葉からの溶出物はなかった。この違いは、ヤブツバキの葉はクチクラが厚く、柵状組織の葉緑体まで溶媒が到達するのに時間がかかる為と考えられた。図4のAは、ヤブツバキ(左)とアジサイ(右)の生の葉をエタノール中に1日以上浸漬させた溶液である。Bは、ヤブツバキ(左)とアジサイ(右)のクロロホルム浸漬後の葉を水洗い後、エタノールに1日以上浸漬させた溶液である。生の葉から溶出させた時と比べ、クロロホルム浸漬後のエタノール溶液はどちらの葉も同じく褐色を呈した。

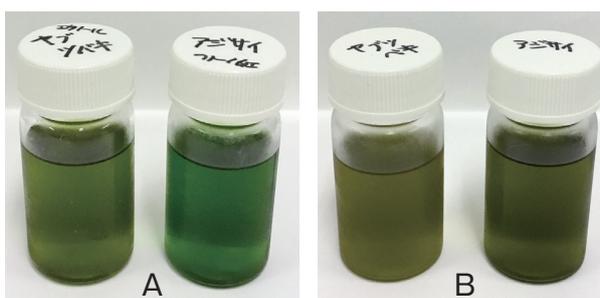


図4 ヤブツバキ(A, B:左)とアジサイ(A, B:右)の葉のエタノール浸漬後の溶液

A：生の葉をエタノールに浸漬させた溶液

B：クロロホルム浸漬後、エタノールに浸漬させた溶液

#### 5.3.2 紫外可視吸収スペクトル測定

ヤブツバキとアジサイの葉から得た溶液の紫外可視吸収スペクトルを図5に示した。吸収波表は図5の注釈に示した。 $\epsilon$ は算出できなかった。図

5のAは、生の葉から溶出した緑色成分の吸収スペクトルである。ヤブツバキの葉のスペクトル(赤)は、図4のAの左の溶液に対応し、アジサイの葉のスペクトル(青)は図4のAの右の溶液に対応している。両スペクトルの長波長側の波形とエネルギーは比較的一致しているが、短波長側の波形に大きな違いがあった。既存のデータ<sup>11) 12)</sup>と比較し、ピークの波長と強度から、共にクロロフィルaが主成分と考えられたが、ヤブツバキ葉はクロロフィルbもしくはβカロテノドを多く含むと考えられた。それは、図4のAにおいてヤブツバキの葉の溶液の方が、アジサイよりも黄色味を帯びた色を呈していることと定性的に一致すると考えられた。

図5のBは、クロロホルムに生の葉を浸漬後、水で洗浄し、続けてエタノールに浸漬させた溶液のスペクトルである。溶液は図4のBに対応している。ヤブツバキ(赤)とアジサイ(青)の葉由来のスペクトルは、全波長領域で波形、エネルギーともに比較的良好一致を示した。Bのスペク

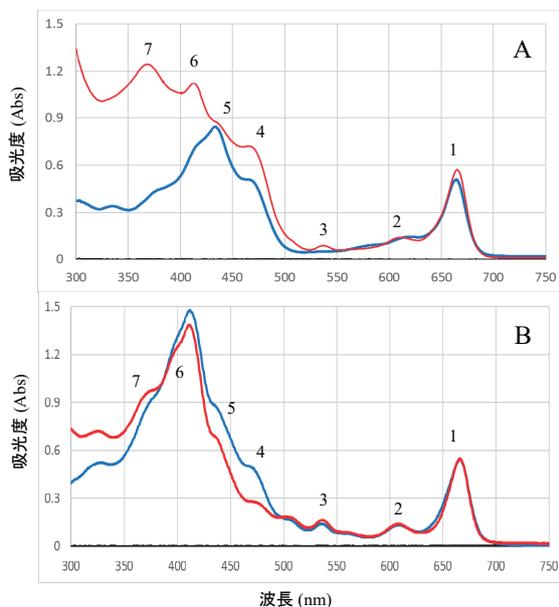


図5 ヤブツバキ(A, B:赤)とアジサイ(A, B:青)の葉のエタノール浸漬後の溶液の吸収スペクトル

A:生の葉をエタノールに浸漬させた溶液  
B:クロロホルム浸漬後、エタノールに浸漬させた溶液  
各ピークの波長(nm) 1:664, 2:609, 3:537, 4:468, 5:437, 6:413, 7:367

トルは既報<sup>12)</sup>と比較し、ヤブツバキとアジサイ共にクロロフィルのテトラフィロール環の中心金属のMgが外れたフェオフィチン由来のスペクトルと考えられた。葉をクロロホルム処理した際に細胞が死にMgが外れ、それによりフェオフィチンが生成したと考えられた。

#### 5.4 葉肉の含有成分の呈色反応

##### 5.4.1 キサントプロテイン反応(芳香族アミノ酸の呈色反応)

生の葉をクロロホルムに浸漬させた後、葉を脱イオン水で洗浄し、続けて葉肉の成分を除く為にエタノール浸漬させ70℃の湯浴中で加熱した後、濃硝酸を加えると葉は黄色みがかかった色に呈色した。図6-1のaはエタノール浸漬後、bはaに濃硝酸を添加した後の葉である。bは濃硝酸を添加したことで、葉緑体に含まれるタンパク質の芳香族アミノ酸がニトロ化された為、黄色く呈色したものと考えられた。

また、ヤブツバキの枯葉(図6-2のe(左))

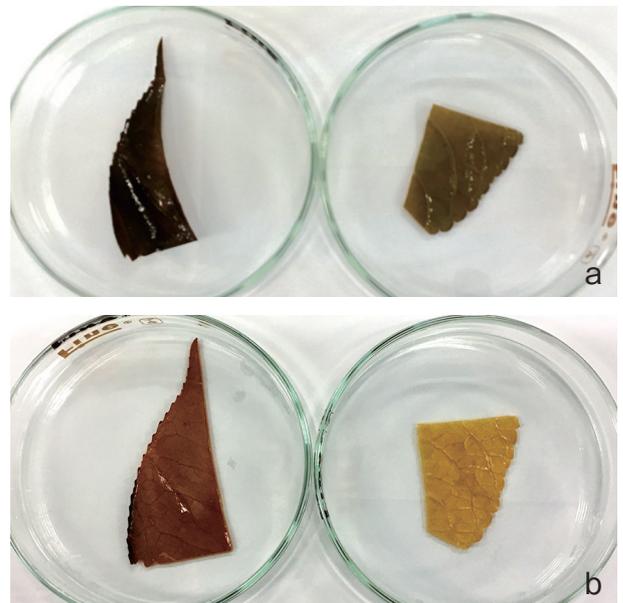


図6-1 ヤブツバキとアジサイの葉のキサントプロテイン反応の様子

a, bの左:ヤブツバキの葉,切片の大きさは約3×6cm  
a, bの右:アジサイの葉,切片の大きさは約3×4cm  
a:クロロホルム抽出後,エタノール浸漬した後の葉  
b:aに濃硝酸を添加した葉

についても同じく反応を試みた。枯葉はクロロホルム浸漬をしても液面に抽出成分が浮くことはなく、クチクラの成分は変性しているものと考えられた。続いて濃硝酸を枯葉に添加したところ、図6-2のe（中央）にある様に黄色く呈色した。芳香族アミノ酸は葉が乾燥しても変性せず、葉に残っていたと考えられた。

#### 5.4.2 ヨウ素デンプン反応（デンプンの呈色反応）

濃硝酸で反応させた葉を水で洗浄後、ヨウ素ヨウ化カリウム溶液を葉の全面に添加した。約12分後、アジサイの葉は図6-2のc（右）に示した

様に全面が黒く呈色したが、ヤブツバキの葉は切断面や傷のある部分が黒く呈色したが、黄色い色が残っていた（図6-2のc左）。約50分後、ヤブツバキの葉も全面が黒く呈色した（図6-2のd左）。ヤブツバキの葉が呈色に時間を要したのは、ヤブツバキの葉はアジサイの葉よりクチクラも葉肉も厚い為、溶液が葉に浸透し、反応が起こるのに時間を要した為と考えられた。

また、ヤブツバキの枯葉についても生の葉と同様に濃硝酸で反応させた後、ヨウ素ヨウ化カリウム溶液を添加したところ、図6-2のe（右）に示した様に黒く呈色した。このことから芳香族アミノ酸と同様に枯葉中でデンプンは変性せず、葉に残っていたと考えられた。

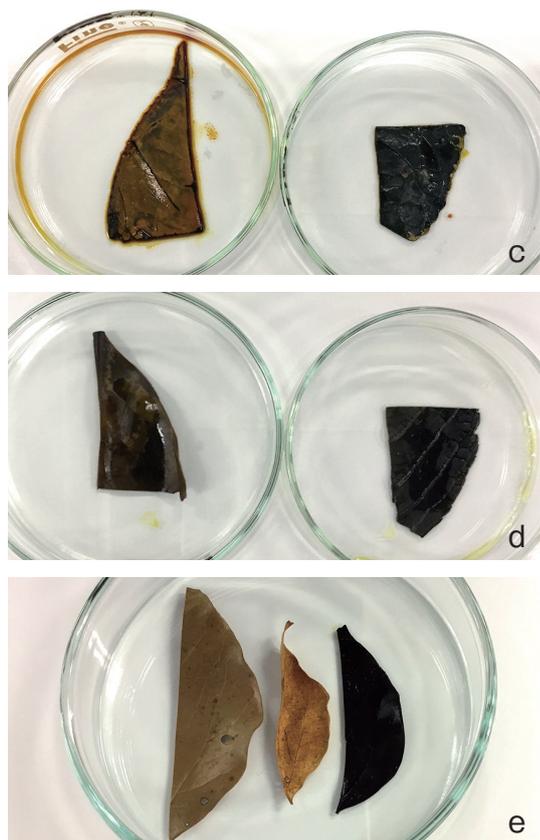


図6-2 ヤブツバキとアジサイの生の葉のヨウ素デンプン反応と枯葉を用いたヨウ素デンプン反応

- c, dの左：ヤブツバキの葉, c, dの右：アジサイの葉
- e：全てヤブツバキの枯葉，反応させた枯葉の切片の大きさは約2×4cm
- c：ヨウ素ヨウ化カリウム溶液を添加し12分後
- d：ヨウ素ヨウ化カリウム溶液を添加し50分後
- e：左は試薬の添加無し、中央は濃硝酸を添加、右は濃硝酸を添加後にヨウ素ヨウ化カリウム溶液を添加

## 6. 生命の階層性の理解を目標とした化学実験の概要と構成

### 6.1 実験の主旨と状況

作成する化学実験の最終的な到達目標は、物質の視点からの生命の階層性の理解である。対象は、大学で化学を学ぶ初年次生とし、基礎的な化学の学習は済んでいることを前提とした。実験の目的は、「葉」を実験教材に用いた「階層における生命活動と物質の関連の理解」とした。化学が観察、実験を通して、物質の構造や性質、反応を調べることにより、物質に関する原理・法則を見いだす性質をもつ<sup>13)</sup>ことを生かし、① 葉の構造の観察、および葉を用いた化学反応の観察を通して、葉に含まれる物質とその物性について理解すること、② ①に基づき細胞・組織・器官の各階層における生命活動において物質が果たす役割を理解することを目指す。①と②についての講義及び観察と実験を通して、葉が持つ階層性と機能について学ぶと共に、各層に含まれる分子とその機能について学び、両者の対応を通して、生命活動と物質の関連の理解に結びつけることを意図している。6.2に実験の構成と概要を示したが、物質が存在する場所を限定した物質の検出方法は、今後の検討課題である。

## 6.2 実験の構成と概要

化学実験は4つの大テーマと発展からなり、テーマ番号の順に学修する。学生は大テーマの中の課題に順次取り組むことで段階的に対象に対して理解を深める。

テーマ1. 葉が持つ階層性についての講義、および観察と実験

- ①葉の選択と採取
- ②葉の切片の作成と切片の構造の観察
- ③葉の切片の構造と機能についての学修

テーマ2. 葉に含まれる分子についての講義、および観察と実験

- ①脂質の検出、および分子の物性と機能を調べる実験
- ②クロロフィル a 他、光合成色素の検出、および分子の物性と機能を調べる実験
- ③タンパク質、デンプンの検出、および分子の物性と機能を調べる実験

テーマ3. 生命活動と物質との関連の学修

- ①代謝により合成される物質について
- ②遺伝子発現により生成する物質について

テーマ4. 葉の各階層の役割と各階層に含まれる分子の機能を対応づけた学修

- ①テーマ1とテーマ2、およびテーマ1とテーマ3の内容の対応づけ
- ②テーマ2とテーマ3の内容の対応づけ

発展.

- ①物質は各階層においてどのような役割を担っているのだろうか。
- ②各階層は何に依って統合されているのだろうか。

## 7. まとめ

大学で化学を学ぶ初年次生を対象とし、クチクラ層が発達しているヤブツバキと、比較としてアジサイの「葉」を実験教材に用いて、「組織における生命活動と物質の関連の理解」を目的とした化学実験の作成を試みた。今回、分子の呈色反応を用いて物質検出の予備実験を行い、実験の内容

について検討した。実験はクチクラを除去後、柵状組織の葉緑体から葉緑素を溶出させた後、キサントプロテイン反応、ヨウ素デンプン反応により順次、葉に含まれている代謝産物の検出を試みた。その結果、呈色反応により代謝物質の存在は確認出来たが、今回試みた実験から組織を限定して物質を検出することは難しかった。物質とその存在する組織・層を対応させるには、場所を限定し物質を検出することが必要と考えられた。今後、物質の局所検出の方法を検討し、組織を起点に階層へと研究を進めたい。

## 謝辞

化学研究室の助手の山田雪子さんには、忙しい最中、ヨウ素ヨウ化カリウム溶液の調整をお願いしました。ここに感謝致します。

## 引用・参考文献

- 1) 小畑謙仁. ヤブツバキの葉からのクチクラ層及びクチクラ外層ワックスの分離とヨウ素デンプン反応の観察. 文教大学教育学部学校教育課程理科専修卒業論文. 2019, 85p.
- 2) 西谷和彦, 梅澤俊明. 植物細胞壁. 講談社サイエンティフィク, 2013, 359p., ISBN978-4-06-153818-4.
- 3) 西村幹夫編集. 植物細胞. 朝倉書店, 2012, 179p., ISBN978-4-254-17655-1.
- 4) 佐々木(関本)結子, 太田啓之. GC×GC-MSを用いたクチクラワックス成分の網羅分析. Shimadzu Application Note ライフサイエンス 50, 2018.
- 5) 広岡芳年. ほか2名. 植物種における葉面ろう物質中炭化水素の炭素数の変化. 生物環境調節 19(1), 1-7, 1981.
- 6) 竹内敬人ほか. 改訂化学. 東京書籍, 2018, p.386-388. ISBN978-4-487-16553-7.
- 7) 吉里勝利ほか. 高等学校生物. 第一学習社, 2013, p.230. ISBN978-4-8040-0639-0.
- 8) 八杉龍一ほか. 岩波生物学辞典第4版. 岩波

- 書店, 2005, p.345. ISBN4-00-080087-6.
- 9) 西谷和彦, 梅澤俊明, 植物細胞壁. 前掲3) p.84-88.
- 10) 大島良美, 光田展隆. “植物の表面を覆うクチクラ形成に重要な制御遺伝子を発見”. 産業技術総合研究所. 2013-05-24.  
[https://www.aist.go.jp/aist\\_j/press\\_release/pr2013/pr20130524/pr20130524.html](https://www.aist.go.jp/aist_j/press_release/pr2013/pr20130524/pr20130524.html), (参照 2019-10-25).
- 11) 河本敏郎ほか. 科学と人間生活 暮らしの中のサイエンス. 数研出版, 2011, p.47. ISBN978-4-410-81163-0.
- 12) 日本光合成学会. “光合成辞典 (Web版)”. クロロフィル類の吸収スペクトル. 2015-04. 日本光合成学会編. 2015-04.  
<http://photosyn.jp/pwiki/index.php>, (参照 2019-10-25).
- 13) 文部科学省. 高等学校新学習指導要領 (平成30年告示) 解説 理科編 理数編. 文部科学省, 2019, 368p., ISBN978-4-407-34873-6.