

藍染の研究 いろいろな条件で染まる秘密を探ろう

浜松市立初生小学校

6 年 寺田 環

1 研究を始めた理由と目的

5 年次の研究で葉の中の酵素は高温で死ぬこと、40℃でよく働き 20℃以下の低温では働きがにぶることが分かったが、低温では酵素が死んだのか、働きがにぶっただけなのかははっきりしていない。一方、インディカン液を長時間放置すると染まらなくなること分かったが、温度と酵素の働きに関する実験は半日かけて行ったため長時間放置の影響が出ている可能性もあった。(文献 6)

4 年次の研究ではタデアイ以外の葉に含まれる酵素の働きを調べる目的でブドウの葉を調査した。インディカン分解する効果は確認できなかったが(文献 5)、文献 1、2 からトウモロコシの子葉鞘にインディカン分解する成分が含まれていることを知り実際に調べてみたいと思った。

実験全体を通してインドキシルがインディゴに変化して青くなるためには酸素が必要であるという前提で染色作業の後に十分に風に当てるなどの操作を行ってきたが、酸素の必要性は実験的に確認できていなかった。また、十分に生長したタデアイの葉にインディカンが多く含まれているという事は実験を通して確認されていたが、子葉や未成熟の本葉などにインディカンが含まれているのかという見方はしてこなかった。これらの事を確認するため、次のことを実験して調べることにした。

(1) アイの葉の成長とともに、いつからインディカンと酵素が葉の中に作られるのか

(2) ア インディカン液と酵素液の安定性

イ 酵素液の低温での特性

ウ アイ以外の植物でインディカン分解するものがあるのか

(3) 酸素が無い状態での染まり方の違い

2 実験方法と結果

(1) インディカンと酵素を含む葉の押し葉が青くなることを利用し、様々な条件の押し葉の色から、インディカンと酵素の有無を調べる。予想と結果は表 1 のようになった。

表 1 葉の部位とインディカン／酵素の有無を調べる実験 予想と結果

条件	図	予想/結果	条件	図	予想/結果
A: 双葉 第 1 本葉出る前		変化なし /変化なし	F: 第 4 本葉		青くなる /濃い青色
B: 双葉 第 1 本葉出た後		変化なし /変化なし	G: 第 1 本葉 草丈 30 cm 時		青くなる /青くなった
C: 第 1 本葉 第 2 本葉出る前		変化なし /変化なし	H: 最頂部本葉 草丈 30cm 時		変化なし /濃い青色
D: 第 1 本葉 第 2 本葉出た後		青くなる /変化なし	I: 最頂部本葉 H にアルミ箔で遮光し数 日生育後		変化なし /濃い青色
E: 第 2 本葉		青くなる /少し青くなった	J: 最頂部本葉 アルミ箔で遮光したま ま出たもの		変化なし /濃い青色

(2) ア 以下の手順でインディカン液と酵素液の安定性を調査した。予想と結果を表 2 に示す。

(ア) タデアイの生葉 2.8g を電子レンジ 500W で 30 秒加熱し葉中の酵素を殺し、これを水 40mL とミキサーにかけ不織布でこす。これを「インディカン液」とする。

(イ) 生葉 1.4g と水 20mL をミキサーにかけ不織布でこし、魚飼育用ポンプで 1 時間送気を

する。これを「酵素液」とする。

(ウ) インディカン液と酵素液を、作成直後、3時間後、6時間後、11時間後のタイミングで混ぜ、16通りの組合せについて真綿の染まり具合を観察する。

表2 インディカン液と酵素液の安定性の実験

予想／結果 ◎よく染まる ○少し染まる ×染まらない		酵素液			
		作成直後	3時間後	6時間後	11時間後
インディカン液	作成直後	◎／◎	◎／◎	◎／◎	×／◎
	3時間後	◎／○	○／○	○／×	×／×
	6時間後	○／○	○／×	○／×	×／×
	11時間後	×／×	×／×	×／×	×／×

表3 温度による染まり方の違い実験

イ インディカン液と酵素液を混ぜる時の温度条件を変えて4種類行う。条件／予想／結果を表3に示す。

条件	予想／結果
A: 0℃に保ったまま混ぜる	×／×
B: 20℃に保ったまま混ぜる	◎／○
C: 0℃にした後、30℃に戻してから混ぜる	◎／◎
D: 低温にはせず、30℃に保ったまま混ぜる	◎／◎

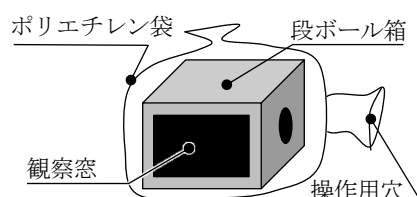
ウ トウモロコシの子葉鞘などにインディカン分解する成分が含まれるのかを調べる。

(ア) 暗所でイネ科種子(極甘スイート／ポップコーン／エンバク)を水耕栽培で発芽後、その根、種子、子葉鞘を部位ごと、あるいは全体をミキサーで混ぜて水溶液とする。

(イ) その液とインディカン液を混ぜ、真綿が染まるかどうかを観察する。

実験に用いた部位、重量、水量の条件と実験の予想と結果を表4に示す。

表4 アイ以外のインディカン分解酵素の実験



種子	部位	部位重量	水	予想／結果
トウモロコシ (極甘スイート)	根	0.7g	20mL	×／×
	種子	0.7g	20mL	×／×
	子葉鞘	0.7g	20mL	◎／×
ポップコーン	根、種子、子葉鞘	35g	40mL	◎／×
エンバク	根、種子、子葉鞘	2.6g	20mL	×／×

図1 実験装置

表5 酸素の有無による染まり方の違いの実験

(3) 酸素の有無による染まり方の違いを調べるため、図1の実験装置を作った。観察窓をあけた段ボール箱をポリエチレン製の袋でおおい、ドライアイスを用いて内部を二酸化炭素で満たした。生葉と水をミキサーにかける作業から染色後の風当て、水洗までを全て装置内で行った。予想と結果を表5に示す。

条件	予想／結果
酸素あり	◎／◎
酸素なし(二酸化炭素中)	×／○

3 考察

(1) 「インディカンと酵素が葉の中でいつできるのか」についての考察

・A, B, C, D の葉は青くならなかったことから、この時期の葉には「インディカンと酵素が両方いない」、もしくは、「どちらかがいない」と考えられる。

・E と F, D と G は同じ部分なのに色が異なることから、生長とともにインディカンと酵素が作られたと考えられる。

・C と H はどちらも出たばかりの本葉であるが、H だけが青くなった。このことから、生長とともにインディカンと酵素が作られやすくなると考えられる。

・H と I はどちらも青くなった。このことから葉に蓄えられたインディカンと酵素は日光を当てずに放置しておいてもなくなる。ジャガイモの葉のデンプンは芋などに送られているが(文献4)、タデアイの場合葉の中のインディカンや酵素は移動しないか別の葉で作られたものが絶えず送られているか、日光とは関係なく作られるものであると考えられる。

・全く日光に当てずに成長させた葉 J は青くなった。これは他の葉からインディカンや酵素が送られてきたか、日光は関係なく自力でインディカンと酵素を作ったかのどちらかと考えられる。

(2) ア 「インディカン液と酵素液の安定性」についての考察

(ア) インディカン液が作成直後の場合、酵素液はどの条件でもよく染まった。このことから、酵素液は時間がたっても変化は起きにくいと考えられる。

(イ) インディカン液は作成直後でないあまり染まらなかったことから、インディカン液は時間がたつと変化しやすいと考えられる。染まらなくなる理由を次のように考えた。

① インディカン液は時間をかけてインドキシルに分解され、染める前にインディゴになってしまう。

② インディカン液にわずかに残っていた酵素が時間をかけてインディカン分解した。

③ インディカンがいなくなり(空气中に蒸発したなど)、インドキシルができなかった。

(ウ) 酵素は半日放置しても特に染まり方に変化はないが、インディカン液はとても不安定のため、作ってすぐに実験をしたほうが良いと考えられる。

(エ) 5 年次の温度と染まり方の実験で、0℃、20℃が染まらなかった(文献6)のは温度の影響の他にインディカン液が古くなっていたことも原因の1つと考えられる。

イ 「酵素の低温での特性」についての考察

安定性の実験結果をもとに、インディカン液の作成後すぐに実験を行うようにしたので、変化の影響はないという前提で考察できる。

(ア) 0℃で染まらないことから低温では酵素が上手く働かないと考えられる。

(イ) 0℃から 30℃に戻したものはよく染まることから、低温にしても酵素は生きており、働きがにぶくなっているだけと考えられる。

ウ 「アイ以外の植物でインディカン分解するものがあるのか」に関する考察

発芽トウモロコシの根／種子／子葉鞘のどの部位でもインディカン分解の結果は得られなかった。これは文献2の内容と異なり別の原因があると考えられる。

(ア) トウモロコシの種類が文献とは違うこと。文献2では *Zea mays* L. (飼料用) を使用。

(イ) トウモロコシの量が少ないこと。(ただし、0.7g と 35g の2種類の条件でも染まり方が変わらなかったことから、量による問題とは考えにくい。)

(ウ) 本実験では水と一緒にミキサーで混ぜただけのものを使ったが、文献2ではトウモロコシの子葉鞘をアルコールを用いて特殊処理をしており、これが大切なかもしれない。

(エ) エンバクの場合も同様に染まらなかったが、これも文献2と同じ処理をしたらどうなるのかは分かっていない。

(3) 「酸素が無い状態での染まり方の違い」についての考察

酸素なしの条件ではインディゴになる割合が減ったため染まりにくくなったと考えられる。

4 今後もっと知りたいこと

(1) 若い葉にはインディカンと酵素どちらがいないのか、両方いないのか。

(2) もっと低い温度にしたら酵素は死んでしまうのか。

(3) トウモロコシに含まれるタンパク質でインディカン分解するにはどうすればよいのか。

5 参考文献

(1) タデ科植物アイのインジカン代謝／南 善子／化学と生物 Vol. 39-No. 3-2001 P202-207

(2) A protein from maize labeled with azido-IAA has novel β -glucosidase activity／N. Campos／The Plant Journal (1992) 2(5) P675-684

(3) つくってあそぼう 26 あいぞめの絵本 農文協／編 山崎 和樹

(4) たのしい理科 6年 大日本図書／有馬 朗人ら

(5) あいぞめの研究 2 カイコを育ててきぬをそめよう／寺田環／

静岡県小・中学校児童生徒 理科研究発表論文集 2018 年版 P102

(6) あいぞめの研究 酵素の働きを調べよう／寺田環／

静岡県小・中・高等学校児童生徒 理科研究発表論文集 2019 年版 P40-42