

タマネギ外皮を用いた広領域型科学実験プログラムの開発研究

早藤 幸隆*, 今倉 康宏*

(平成25年6月18日受付, 平成25年12月3日受理)

A study on the development of the extensive domain type scientific-experiments program using the outside skin of onion

HAYAFUJI Yukitaka*, IMAKURA Yasuhiro*

The purpose of this study is the proposal of the extensive domain type scientific-experiments program that the learners can raise the capability and the attitude investigated scientifically. In this study, we developed the extensive domain type scientific-experiments program using the outside skin of onion which consists of four stages which pass along an important research process. The four stages are as follows, the first stage : the isolation and identification, structural elucidation of quercetin contained the outside skin of onion, the second stage : the synthesis of quercetin related compounds and its application, the third stage : the complex reaction between quercetin related compounds and various metallic ion, and its application, the fourth stage : the antioxidant activity of quercetin related compounds. The learners can get new scientific concepts, basic scientific knowledge, and the experimental skills through this program.

Key word : extensive domain type scientific-experiments program, outside skin of onion, quercetin

I はじめに

1 背景

近年、児童・生徒の理科に対する興味・関心の低下による理科離れ、科学・技術離れと共に、学問的・知的好奇心を持って、真剣に問題を考える姿勢の希薄による知離れが指摘されている⁽¹⁾。人間の知的創造力が最大の資源であり、科学技術創造立国を目指す我が国にとって、これらは是正が必要な今日的課題である。

特に科学・技術分野は、地道な実験や研究の積み重ねが必要であることから、青少年の科学・技術離れは、我が国にとって深刻な状況であり、これらを打開するためには、少年期から継続的に科学・技術の真の面白さや楽しさを体験しながら、科学的な探究力や豊かな科学的素養を身に付ける事を訓練し、練習する学習が重要である。

著者は、児童・生徒の科学的に探究する能力と態度を育成するためには、まず指導・実践する教師自らが、探究活動・課題研究を遂行する能力を身に付けると共に、教育現場で応用・改良しながら、実践出来る科学実験プログラムの開発が重要であると考えている。

その観点から、現職教員を含む大学院生や理科教員を目指す学部学生を対象に、茶葉⁽²⁾、藍⁽³⁾(スクモ)、アゾ色素⁽⁴⁾、及び光触媒酸化チタン⁽⁵⁾など身近な素材を実験試料に用いた実験プログラムを開発し、その成果について報告してきた。更に、図1に示すように、開発し

た実験プログラムを教科・領域が密接に関連する広領域型の科学実験プログラムへと構築し、現職教員を含む大学院生や理科教員を目指す学生を対象に試行・検証した⁽⁶⁾。その結果を基に、学習段階に応じた形にプログラムを再編成し、児童・生徒が科学的な探究力や論理的な思考力を身に付ける体験学習の場として、小・中・高校の教育現場及び大学の公開講座での実践により、広領域型科学実験プログラムの教育的な効果を確認してきた⁽⁷⁾⁽⁸⁾。

広領域型の科学実験プログラムの特色は、身近な素材を用いて、複数の教科・領域を効果的に組み合わせる一体化し、探究活動のプロセスを体験しながら、学習者が主体的に問題解決活動を推進する能力を高める事などが挙げられる⁽⁹⁾。

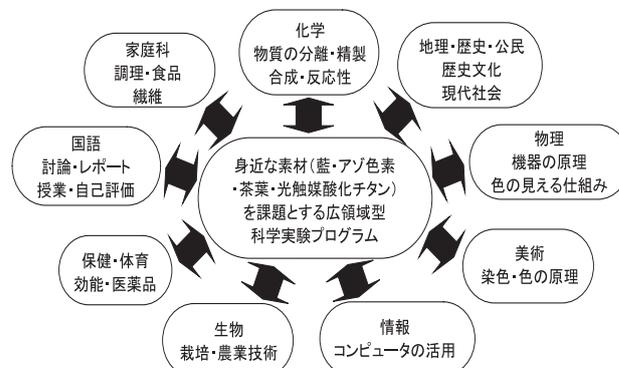


図1 身近な素材を用いた広領域型科学実験プログラム

* 鳴門教育大学 (Naruto University of Education)

2 これまでの研究成果を引用した導入

これまでに著者は、身近な抗酸化物質としてアスコルビン酸（ビタミンC）を用いた広領域型科学実験プログラムの実践⁽¹⁰⁾と共に、銀杏葉の抗酸化活性成分の探索とその構造活性相関⁽¹¹⁾に関する実験教材について報告してきた。

今回、本研究では、抗酸化活性を有する身近な素材としてタマネギの外皮に含有するクエルセチン（以下QRTと略記）に着目した。QRTのようにC₆-C₃-C₆を基本骨格とするフラボノイド化合物は、抗酸化作用や抗菌作用などを有する事が知られている。しかしながら、フラボノイド化合物におけるフェノール性水酸基に注目し、分子構造と抗酸化活性との関係を科学的に探究しながら、広領域的に展開する教材は、著者が調査した限り見当たらない。以上の事から、身近な素材に含有する有意な化合物群の抗酸化物質を用いて、教科・領域が関連する実験教材の開発は意義あるものと考えられる。

3 タマネギに含有する生理活性物質について

一般に食用として利用されるタマネギは、主に鱗形部とその外皮に分類される。図2に示すように、鱗形部に含有するアリインは酵素アリナーゼにより加水分解され、アリシンに変化する。アリイン自体は無臭であるが、アリシンは強い刺激臭を発生し、タマネギの臭いの原因となる。アリシンが発生した後、空气中的酸素で酸化されると涙腺刺激性のある硫化アリル（チオプロピオンアルデヒド）が生成される。

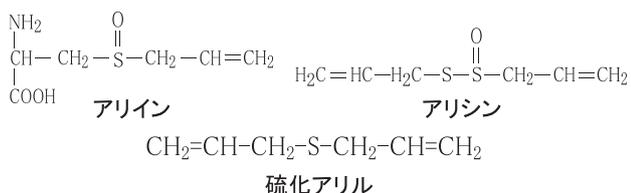


図2 鱗形部の主な含有成分

また図3に示すように、外皮には、古来より染色における色素成分としてQRT、ミリセチン、ケンフェロールと共に、QRTをアグリコンとしたβ-グルコースの置換位置の異なる配糖体を含有している。

タマネギの生理作用としては、含硫アミノ酸は血糖値の降下作用⁽¹²⁾を示し、細断によりCSリアーゼと反応しチオスルフィネートやスルフィド類などの様々な含硫化合物を生成する。これらの揮発性含硫化合物にも、抗

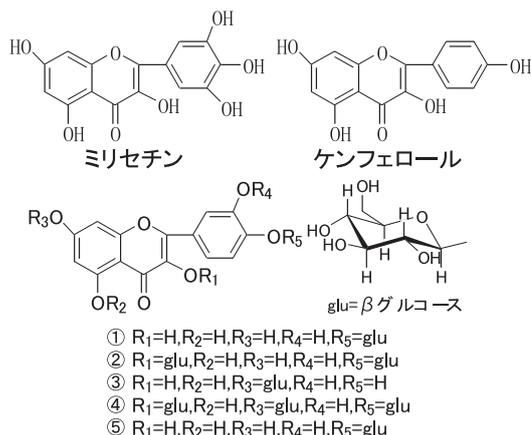
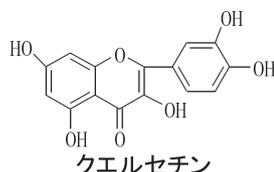


図3 外皮の主な含有成分

血栓⁽¹³⁾、抗腫瘍⁽¹⁴⁾、抗喘息⁽¹⁵⁾など様々な薬理効果がある。また、加熱により生じるシクロアリンには繊維素溶解活性⁽¹⁶⁾や血清脂質低下作用⁽¹⁷⁾が報告されている。

一方、フラボン骨格を有するQRTの抗酸化作用に関しては、抗酸化能による胃保護作用効果⁽¹⁸⁾や血管平滑筋におけるNO除去やNOからの保護作用⁽¹⁹⁾を示す事が報告されている。また、種々のQRT配糖体の酸化電位の測定により、7位は酸化に寄与せず、4位が最初に酸化される事⁽²⁰⁾と共に、心血管系・高血圧においては、高血圧自然発症ラットの血圧を有意に低下させる事が報告されている⁽²¹⁾。

抗糖尿病・肥満への作用では、ラットの糖尿病性腎症が軽減⁽²²⁾される事、抗がん性・抗細胞増殖作用では、ミリセチンとQRTのチオレドキシシン還元酵素の抑制による細胞周期の停止を介した抗がん作用⁽²³⁾、更に抗ウイルス作用では、インフルエンザウイルス感染へのルチン、QRTの効果⁽²⁴⁾が報告されている。

最近では、タマネギを原料とした健康補助食品等の加工食品が開発されている。その製品としては、タマネギの鱗茎、外皮及び薄皮等から直接抽出により、濃縮エキスにした栄養補助食品や新鮮なタマネギ全体を凍結乾燥により粉末化後に粒状にした栄養機能食品及びタマネギジュース等の健康食品が挙げられる。これらの健康食品は、コレステロール値や血糖値の低下、抗酸化作用、滋養強壯の効能が注目されている。

以上のようにタマネギは、我々の日常生活における健康維持或いは機能促進に関して、重要な役割を果たしている食品の一つとして考えられる。

II 本研究の目的

本研究では、抗酸化活性を有する実験試料としてタマネギの外皮を捉え、活性酸素に対して高い抗酸化能を有する標的物質としてQRTを単離し、QRT関連化合物の合成と反応性及び錯体反応と抗酸化活性について検討

し、それらを広領域型科学実験プログラムへと構築する事を目的とした。そして、教員を目指す学部学生を対象として、タマネギ外皮を用いた広領域型科学実験プログラムを試行的に検証した。

Ⅲ 実験

1 有機溶媒・試薬・試液および試料

アセトン^(注1)、ピリジン^(注1)、無水酢酸、メタノール、炭酸カリウム、硫酸ジメチル^(注1)、酢酸エチル^(注1)、無水硫酸マグネシウム、炭酸ナトリウム、塩酸、塩化鉄(Ⅲ)、硫酸銅(Ⅱ)、塩化アルミニウム、エタノール、2,2-ジフェニル-1-ピクリルヒドラジル(以下 DPPH と略記)、クロロホルム^(注1)、QRT、臭化カリウム(以下 KBr と略記)いずれも試薬特級、重メタノール [CD₃OD; アルドリッチ社]、シリカゲル薄層クロマトグラフィー(メルク社 105715,60 F 254,3 × 7cm)、重クロロホルム [CDCI₃; アルドリッチ社, 0.03% (v/v) テトラメチルシラン含有]、アスコルビン酸

2 実験器具・装置

核磁気共鳴装置 (Bruker ARX - 300), 紫外可視分光光度計 (日本分光 V - 530), 赤外分光光度計 (日立 270-50), 質量分析装置 (JEOL JS GC-mate), 分子軌道計算ソフト CAChe (富士通株式会社), 三角フラスコ, ジムロート冷却管, ろ紙, ナスフラスコ, 乾燥管, ビーカー, 木綿布, 温度計, ロータリーエバポレーター, 回転子, 試験管, マグネチックスターラー, 水浴, 脱脂綿, 微量融点測定装置 (ヤナコ機器 MP-J3), カラムクロマトグラフィー管, 駒込ピペット, 駒込キャップ, パスツールピペット, 分液ロート, ピンセット, メスシリンダー

3 タマネギの外皮成分 QRT の単離

3.1 タマネギの外皮成分の抽出

500 ml の三角フラスコにタマネギ外皮粉末 40 g とアセトン^(注1) 300 ml を入れた後, ジムロート冷却管を取り付け, 水浴上で 30 分間還流した。アセトン抽出液を自然ろ過後減圧濃縮し, アセトンエキス 2.12g を得た。

3.2 QRT の単離

アセトンエキスをシリカゲル 6 g に吸着させた後, シリカゲル 130 g を用いた湿式カラムクロマトグラフィー(溶離液; クロロホルム: メタノール = 10:1)により分離・精製し, 275.6 mg の QRT を単離した。

3.3 QRT の構造決定

単離した QRT は, 核磁気共鳴(以下 NMR と略記), 赤外吸収(以下 IR と略記), 質量分析(以下 MS と略記)及び紫外可視吸収(以下 UV-Vis と略記)による, 各分

析機器のスペクトルデータを用いて構造解析した。

4 QRT 関連化合物の合成とその応用

QRT 分子構造に存在する水酸基の化学的性質を確認するために, アセチル化及びメチル化反応を行い, 化合物 (1) と (2) を合成した(図4)。また, (1) と (2) のアルカリ性水溶液に対する反応性を検討した。

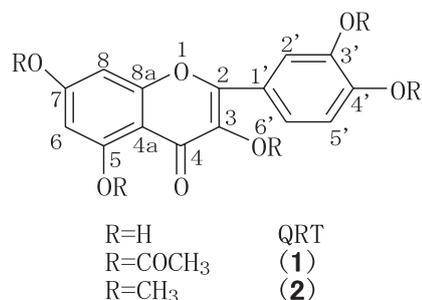


図4 QRT 関連化合物の構造式

4.1 QRT のアセチル化反応

50 ml のナスフラスコに QRT 100 mg と無水酢酸 3ml 及びピリジン 3ml を加えて密栓後, 室温中マグネチックスターラーで 1 時間攪拌した。アセチル化反応終了は, 原料の QRT の消失をシリカゲル薄層クロマトグラフィーにより確認した。その後, ナスフラスコ中の反応液をパスツールピペットで氷水中に少しずつ滴下した。氷水中に析出した沈殿物は, 吸引ろ過により得た。沈殿物を 50% 含水メタノールにより再結晶し, 88.3 mg の白色針状晶 (1) を得た。

4.2 QRT のメチル化反応

50 ml のナスフラスコに無水アセトン 10 ml, 硫酸ジメチル 1ml, QRT 100 mg, 無水炭酸カリウム 1.2 g を加え, フラスコ上部にジムロート冷却管を取り付け, 55°C の水浴で 1 時間還流した。メチル化反応終了は, 原料の QRT の消失をシリカゲル薄層クロマトグラフィーにより確認した。反応液を自然ろ過して得たる液に蒸留水 30 ml を加え, 分液ロートに移し酢酸エチル 30 ml で二回抽出した。酢酸エチルを無水硫酸マグネシウムで脱水乾燥し, 自然ろ過した後, 減圧濃縮により, 黄褐色の生成物を得た。生成物を 50% 含水メタノールで再結晶し, 44.5 mg の黄色針状晶 (2) を得た。

4.3 QRT 関連化合物のアルカリ加水分解反応

分子構造中の置換基の異なる化合物 (1) 及び (2) のアルカリ性水溶液に対する化学的な反応性を検討した。各試験管に (1) 及び (2) を 15 mg 入れ, メタノール 10 ml と 10% 炭酸ナトリウム水溶液 10 ml を加えて, 室温で 10 分間攪拌した。

5 QRT 関連化合物と種々の金属イオンとの錯体反応とその応用

5.1 QRT 関連化合物の錯体生成

QRT と (1) 及び (2) の 5% アセトン溶液を調整した。また、塩化鉄 (III)、硫酸銅 (II)、塩化アルミニウムの各 1% エタノール溶液を調製した。ろ紙上で各々の溶液が重なるように毛細管でスポットし、互いに重なった領域の呈色変化の様子を観察した。

5.2 QRT による染色

QRT の 0.1% アセトン溶液 50 ml を 200 ml のビーカーに加えた。5 × 5(cm) の木綿布を、溶液に浸した後、ピンセットで取り出し、ドラフト内で風乾させた。媒染剤として、塩化鉄 (III)、硫酸銅 (II)、塩化アルミニウムの各 1% 水溶液 50 ml を 200 ml のビーカーに加え、染色布を浸し染色した。

6 QRT 関連化合物の抗酸化活性

QRT 関連化合物の抗酸化活性の評価は、DPPH を用いたラジカル捕捉活性法により検討した⁽²⁵⁾。

即ち、図 5 に示したように、DPPH の UV-Vis スペクトルでの可視領域における極大吸収波長 515nm を固定波長として、紫外可視分光光度計により、DPPH 吸光度の減少度を測定した。

エタノール 2ml と 200 μmol/L の DPPH エタノール溶液 2ml をホールピペットにより、共栓試験管①に加えて、コントロールとした。エタノール 4ml をホールピペットにより、共栓試験管②に加え、コントロールブランクとした。

次に、試料である QRT と (1) 及び (2) の 13 μmol/L のエタノール溶液 2ml をホールピペットで、各々の共栓試験管③-1, 2, 3 に加えた。同濃度の試料溶液 2ml とエタノール 2ml をホールピペットで、各々の共栓試験管④-1, 2, 3 に加え、試料ブランクとした。

共栓試験管③-1, 2, 3 に 200 μmol/L の DPPH エタノール溶液 2ml をホールピペットで加え、ボルテックスミキサーで攪拌後、20 分間室温で放置した。

また、同様の方法で 28 μmol/L のアスコルビン酸を用いて、QRT 関連化合物の抗酸化活性における評価の対象とした。

活性の評価値は、以下の計算式により求めた。

DPPH による抗酸化活性 (%) = $\{(AC-ACB)/(AS-ASB)\} \times 100$

AC : コントロールの抵抗値 (DPPH + エタノール)

ACB : コントロールブランクの抵抗値 (エタノール)

AS : 試料の抵抗値 (試料 + DPPH)

ASB : 試料ブランクの抵抗値 (試料 + エタノール)

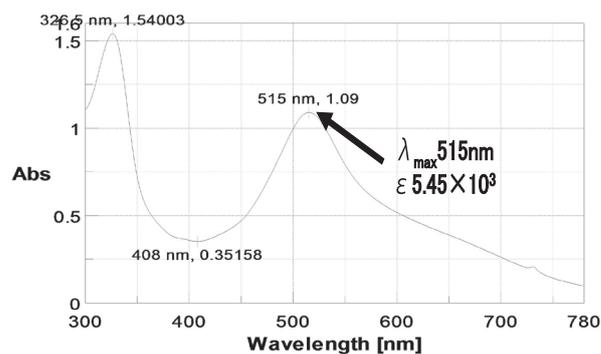


図 5 DPPH の UV-Vis スペクトル

IV 実験の結果と考察

1 タマネギの外皮成分 QRT の単離について

タマネギ外皮より抽出したアセトンエキスには、シリカゲル簿層クロマトグラフィー (展開溶媒; クロロホルム: メタノール = 10:1) により、塩化鉄 (III) 試薬に陽性の Rf = 0.42 (QRT) 及び Rf = 0.08 のスポットを確認した。また、Rf = 0.14, 0.24 に紫外線 (254 nm) 吸収を有するスポットの存在を確認した。これらの含有成分から、湿式シリカゲルカラムクロマトグラフィーにより、黄色帯状部を分取し、20 分の短時間で、効率良く QRT を単離する事が出来た。単離した QRT は、シリカゲル簿層クロマトグラフィーにより QRT 標品の Rf 値と一致した。

2 QRT の構造決定について

QRT の構造決定は、NMR, IR, MS 及び UV-Vis の各分析機器を用いた測定により、各々のスペクトルデータを詳細に解析した。

QRT のデータは、¹H-NMR (CD₃OD, 300MHz) : δ 6.20 (1H, d, J=2.0Hz, H-6), δ 6.40 (1H, d, J=2.0Hz, H-8), δ 6.91 (1H, d, J=8.5Hz, H-5'), δ 7.66 (1H, dd, J=8.5, 2.2Hz, H-6'), δ 7.76 (1H, d, J=2.2Hz, H-2'); IR (KBr 法) : 3450cm⁻¹ (水酸基), 1682cm⁻¹ (α, β - 不飽和カルボニル基), 1603cm⁻¹ (芳香環); 高分解能 MS (EI: 70eV) : 分子式 C₁₅H₁₀O₇ (Found. 302.0442, Calcd. 302.0426); UV-Vis (溶媒: エタノール) 極大吸収波長 372.5nm (ε : 1.49 × 10⁴) であった。以上のスペクトルデータを総合的に判断する事により、QRT であると決定した。

3 QRT 関連化合物の合成とその応用について

表 1 に示すように、δ 2.25 ~ 2.35 間に 5 つのアセチル基及び δ 3.88 ~ 3.97 間に 5 つのメトキシ基に相当する各々 15 水素のシグナルが確認された事から、融点 146 ~ 149°C を示す白色針状晶 (1) をペンタアセチル QRT, 融点 193 ~ 195°C を示す黄色針状晶 (2) をペンタメトキシ QRT であると決定した。

表1 QRT と (1), (2) の ¹H-NMR スペクトルデータ

¹ H-NMR	QRT (CD ₃ OD)	(1) (CDCl ₃)	(2) (CDCl ₃)
H-6	6.20(1H,d,J=2.0Hz)	6.87(1H,d,J=2.2Hz)	6.33(1H,d,J=2.1Hz)
H-8	6.40(1H,d,J=2.0Hz)	7.69(1H,d,J=2.2Hz)	7.71(1H,d,J=2.1Hz)
H-2'	7.76(1H,d,J=2.2Hz)	7.33(1H,d,J=2.2Hz)	6.51(1H,d,J=2.1Hz)
H-5'	6.91(1H,d,J=8.5Hz)	7.35(1H,d,J=8.8Hz)	6.98(1H,d,J=9.1Hz)
H-6'	7.66(1H,dd,J=8.5,2.2Hz)	7.71(1H,dd,J=8.8,2.2Hz)	7.70(1H,dd,J=9.1,2.1Hz)
-COCH ₃		2.25(6H,s), 2.26(3H,s)	
		2.27(3H,s), 2.35(3H,s)	
-CH ₃			3.88(3H,s), 3.89(3H,s)
			3.91(3H,s), 3.96(3H,s)
			3.97(3H,s)

また、(1) と (2) のアルカリ性水溶液との反応性を検討した結果、(1) は無色から次第に黄色を呈した。これは、分子中にアセトキシ基を有する (1) がアルカリ加水分解反応により、QRT に変化した後、呈色したと考えられる。この事を実証するため、10% 塩酸で酸性化した後、生じた沈殿物をろ取りし、シリカゲル簿層クロマトグラフィー（展開溶媒；クロロホルム：メタノール＝10:1）を検討した結果、(1) と QRT の混合物である事を確認した。また、ろ液は一部濃縮し酢酸臭を確認した事より、(1) は、酢酸と QRT との脱水縮合により生成したエステル結合の誘導体である事を示す事が出来た。一方、(2) はアルカリ加水分解反応が起こらず、QRT が生成しない事を確認した。

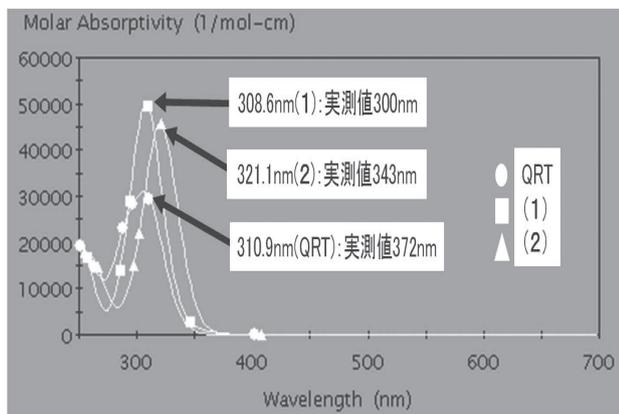


図6 分子軌道計算ソフト (CACHe) による QRT 関連化合物の UV-Vis 吸収スペクトル

更に、QRT 関連化合物の構造と発色の関係を学習する為の補助教材として、分子軌道計算ソフト (CACHe^(注2)) により、UV-Vis スペクトルをシミュレーションした。

図6に示すように、計算値における UV-Vis スペクトルは、QRT と (1), (2) に関する分子構造の発色を反映しているものの、計算値と実測値では、最大 60nm の極大吸収波長の差が見られた。この差の要因としては、溶媒効果を含まない真空中での計算シミュレーションである為の差と考えられた。

4 QRT 関連化合物と種々の金属イオンとの錯体反応とその応用について

4.1 QRT 関連化合物の錯体生成について

QRT 関連化合物の錯体反応は、QRT と塩化鉄 (III) が紫色、硫酸銅 (II) が黄土色、塩化アルミニウムが濃黄色を示した。一方、(1) と (2) は、呈色が確認されなかった。この事から、QRT 関連化合物と金属イオンとの錯体生成による呈色反応は、QRT 分子中のフェノール性水酸基の存在による事が示唆された。

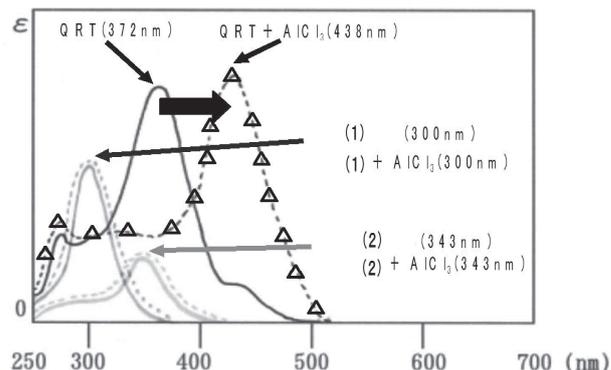


図7 QRT 関連化合物との塩化アルミニウムとの錯体反応における UV-Vis スペクトル

図7における UV-Vis スペクトルが示すように、QRT は塩化アルミニウムとの錯体形成により、極大吸収波長が 372nm から 438nm へ長波長側にシフトした。一方、(1) と (2) は変化しなかった。以上の事から、QRT 分子中のフェノール性水酸基と金属イオンの反応は、フェノール性水酸基の酸素原子が有する非共有電子対の電荷移動により、吸収帯が長波長側にシフトし、色調変化する事が示された。

4.2 QRT による染色について

図8に示すように、QRT のみでも薄い黄色に染まるが、媒染剤に浸し、水洗後乾燥させると、塩化鉄 (III) は紫色、硫酸銅 (II) は黄褐色、塩化アルミニウムは濃黄色に染色出来た。また、水糊と漂白剤による抜染用糊と型紙を用いる事により、簡単に型抜き模様を作成出来る事を確認した。

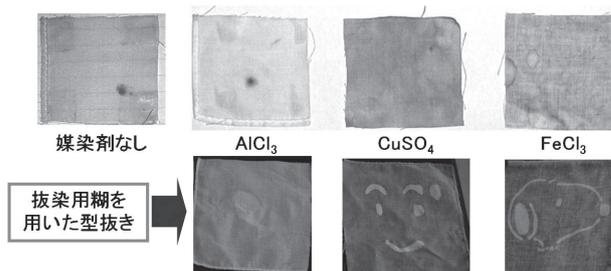


図8 QRT を用いた染色

5 QRT 関連化合物の抗酸化活性について

表 2 に示すように、QRT 関連化合物の抗酸化活性の評価値は、QRT が濃度 $13 \mu\text{mol/L}$ において、150.1 % を示した。一方、(1) と (2) の評価値は、同濃度で活性が認められなかった。このことから、QRT 関連化合物における抗酸化活性は、QRT 分子中のフェノール性水酸基の存在が深く関与している事が示唆された。

また、QRT は、アスコルビン酸（ビタミン C）の約半分の濃度で、同様の抗酸化活性を示す事が本実験において明らかになった。

表 2 QRT 関連化合物の抗酸化活性の評価値

試料名	濃度 ($\mu\text{mol/L}$)	ラジカル 捕捉活性
QRT	13	150.2%
(1)	13	100.2%
(2)	13	100.3%
アスコルビン酸	28	134.6%

6 実験のまとめ

IV の 1 から 5 における実験の結果と考察より、抗酸化活性を有する身近な素材としてタマネギの外皮を捉え、単離した QRT を用いた関連化合物の合成と化学的な反応性及び錯体反応と抗酸化活性について科学的に実証した。

V タマネギ外皮を用いた広領域型科学実験プログラムの構築

1 広領域型科学実験プログラムの構築について

IV で明らかにした実験結果と考察を基に、第一段階：タマネギの外皮成分 QRT の単離・同定及び構造決定、第二段階：QRT 関連化合物の合成とその応用、第三段階：QRT 関連化合物と種々の金属イオンとの錯体反応とその応用、第四段階：QRT 関連化合物の抗酸化活性の四段階のプログラムを試案した。

そして、図 9 に示すように各段階において、物理学の

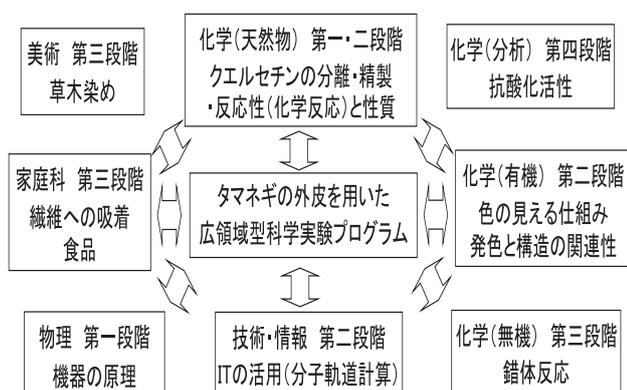


図 9 タマネギ外皮を用いた広領域型科学実験プログラム

内容では、第一段階における「機器の原理」、化学では、第二段階における「QRT の分離精製・反応性と性質」、家庭科及び美術科では、第三段階における「QRT による染色」と「繊維への吸着」のように教科・領域が密接に関連したタマネギの外皮を素材とする広領域型科学実験プログラムとして構築した。

各段階は、科学的な探究力の育成に重点を置き、「講義→実験・観察→考察・討論」の教授形態に対応して、「内容の把握→実験計画・基本操作→内容の理解・表現」を学習者が繰り返す構成とした。学習者は、各段階における実験体験を通して、多様な教科・領域の科学的手法による試行を繰り返しながら、科学的な探究の過程を経験し、新しい概念や科学的基礎・基本事項及び実験操作等を理解・習得出来るように考慮した。

2 開発したプログラムの試行的検証

開発したタマネギ外皮を用いた広領域型科学実験プログラムの試行的検証は、本学の自然系理科教育コース学部 2 年生の化学実験における実験・実習として、2 年間で計 32 名を対象に実施した。

実施内容は、大学教員による全体講義（実習時間：3 時間×1）、第一段階：タマネギの外皮成分 QRT の単離・同定及び構造決定（実習時間：3 時間×3）、第二段階：QRT 関連化合物の合成とその応用（実習時間：3 時間×2）、第三段階：QRT 関連化合物と金属イオンとの錯体反応（実習時間：3 時間×1）、第四段階：UV-Vis 分光光度計による QRT 関連化合物の抗酸化活性（実習時間：3 時間×1）の計 8 回とした。また、実験・実習の形態は、受講者を 2 名 1 組で各段階を実施した。

全体講義では、最初に実験の心構えと安全に行うための指針、実験ノートの書き方について説明した。次に、広領域型科学実験プログラムの特色や実践例と共に、四段階で構成するタマネギの外皮を素材とする広領域型科学実験プログラムにおける実験・実習の内容について詳細に解説した。全体講義の後には、実験・実習の内容に関して、受講者の自己評価による理解状況を調査した。質問紙による調査項目は、以下の①から⑧とした。回答は、良く理解出来た、理解出来た、あまり理解出来なかった、理解出来なかった、の四者択一とした。また、良く理解出来たと理解出来たを肯定的内容理解、あまり理解出来なかったと理解出来なかったを非肯定的内容理解として人数を集計した。

- ① シリカゲルカラムクロマトによる QRT の単離
- ② シリカゲル簿層クロマトによる QRT の同定
- ③ QRT の構造決定
- ④ QRT 関連化合物の合成
- ⑤ QRT 関連化合物の化学的反応性
- ⑥ RT 関連化合物と金属イオンとの錯体反応

⑦ QRT による染色

⑧ QRT 関連化合物の抗酸化活性

全ての実験・実習の終了後には、同様の調査を行うと共に、受講者の授業評価を実施した。更に、各段階において、受講者の知識の定着度を確認する事後テストと実験レポートの評価により、実験課題に関する理解度を調査した。

2.1 QRT の単離・同定及び構造決定について

第一段階の QRT の単離・同定及び構造決定で受講者には、広領域の枠組みの中で、抽出・分離精製での天然物化学、微量混合物の解析として分析化学、NMR における電子スピンの磁気的性質をはじめとする分析機器の構造的原理の考え方に物理学の観点に関連している事を把握させた。その観点を基に、受講者は、カラムクロマトの分離システムにおける天然物の抽出操作・溶出溶媒の選択と物質の単離、シリカゲル薄層クロマトの分析における物質の同定、及び各分析機器の構造的性質とスペクトル情報における物質の構造決定を学んだ。

表 3, 4, 5 には、実験・実習の前後における受講者の自己評価による理解状況の回答結果を示した。実験・実習の前後で、直接確率計算 2×2 により 5% 水準で検定 (両側検定) すると、質問項目① ($p=0.000$, $p<.05$) と② ($p=0.000$, $p<.05$) 及び質問項目③ ($p=0.041$) は、実験前後と肯定的内容理解に有意な関連が認められ、実験後には肯定的内容理解が多くなった。

表 3 質問項目①について

	肯定的内容理解	非肯定的内容理解
実験・実習前	9 (28.1)	23 (71.9)
実験・実習後	26 (81.3)	6 (18.7)

(n=32) 注：単位は人数，() 内の数字は%

表 4 質問項目②について

	肯定的内容理解	非肯定的内容理解
実験・実習前	12 (37.5)	20 (62.5)
実験・実習後	27 (84.3)	5 (15.7)

(n=32) 注：単位は人数，() 内の数字は%

表 5 質問項目③について

	肯定的内容理解	非肯定的内容理解
実験・実習前	4 (12.5)	28 (87.5)
実験・実習後	12 (37.5)	20 (62.5)

(n=32) 注：単位は人数，() 内の数字は%

2.2 QRT 関連化合物の合成とその応用について

第二段階の QRT 関連化合物の合成とその応用で受講者には、広領域の枠組みの中で、分子構造と発色の関係

として有機化学、補助資料として提示した計算科学による QRT 関連化合物の UV-Vis 吸収スペクトルでの情報科学が関連している事を把握させた。その観点を基に、受講者は、QRT 分子中のフェノール性水酸基の特徴を捉えながら、化学変換に関する合成の考え方を学ぶと共に、官能基の化学的な反応の違いを学んだ。

表 6, 7 に示した回答結果を基に、直接確率計算 2×2 により 5% 水準で検定 (両側検定) すると、質問項目④ ($p=0.000$, $p<.05$) と⑤ ($p=0.009$) は、実験前後と肯定的内容理解に有意な関連が認められ、実験後には肯定的内容理解が多くなった。

表 6 質問項目④について

	肯定的内容理解	非肯定的内容理解
実験・実習前	11 (34.4)	21 (65.6)
実験・実習後	25 (78.1)	7 (21.9)

(n=32) 注：単位は人数，() 内の数字は%

表 7 質問項目⑤について

	肯定的内容理解	非肯定的内容理解
実験・実習前	14 (43.8)	18 (56.2)
実験・実習後	25 (78.1)	7 (21.9)

(n=32) 注：単位は人数，() 内の数字は%

2.3 QRT 関連化合物と金属イオンとの錯体反応について

第三段階の QRT 関連化合物と金属イオンとの錯体反応で受講者には、広領域の枠組みの中で、錯体形成における無機化学、草木染めの原理を利用した染色として美術科、繊維 (木綿布) への電気的な吸着として家庭科の教科・領域が関連している事を把握させた。その観点を基に、受講者は、QRT 分子中のフェノール性水酸基の反応性を習得しながら、染色の色調変化を学んだ。

表 8, 9 に示した回答結果を基に、直接確率計算 2×2 により 5% 水準で検定 (両側検定) すると、質問項目⑥ ($p=0.022$) と⑦ ($p=0.022$) は、実験前後と肯定的内容理解に有意な関連が認められ、実験後には肯定的内容

表 8 質問項目⑥について

	肯定的内容理解	非肯定的内容理解
実験・実習前	19 (59.4)	13 (40.6)
実験・実習後	28 (87.5)	4 (12.5)

(n=32) 注：単位は人数，() 内の数字は%

表 9 質問項目⑦について

	肯定的内容理解	非肯定的内容理解
実験・実習前	22 (68.8)	10 (31.2)
実験・実習後	30 (93.8)	2 (6.2)

(n=32) 注：単位は人数，() 内の数字は%

理解が多くなった。

2.4 QRT 関連化合物の抗酸化活性について

第四段階の UV-Vis 分光光度計による QRT 関連化合物の抗酸化活性において受講者には、化合物の物性を扱う分析化学が関連している事を把握させた。その観点に基づき、受講者は、DPPH ラジカル捕捉活性による QRT 関連化合物の抗酸化活性が、フェノール性水酸基に由来する事を学んだ。

表 10 に示した回答結果を基に、直接確率計算 2×2 により 5%水準で検定（両側検定）すると、質問項目⑧ ($p=0.000$, $p<.05$) は、実験前後と肯定的内容理解に有意な関連が認められ、実験後には肯定的内容理解が多くなった。

表 10 質問項目⑧について

	肯定的内容理解	非肯定的内容理解
実験・実習前	8 (25.0)	24 (75.0)
実験・実習後	23 (71.9)	9 (28.1)

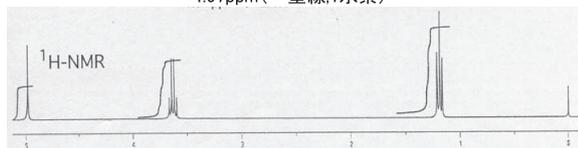
(n=32) 注：単位は人数，() 内の数字は%

3. 開発したプログラムの試行的検証の評価

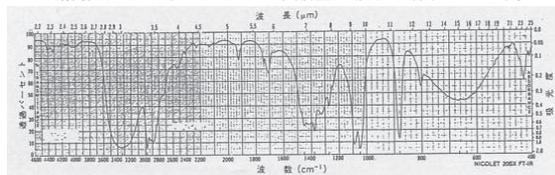
受講者の自己評価による理解状況の調査は、実験前後と肯定的内容理解に有意な関連が認められた。授業評価では、「授業内容は、教養を深め、教育の見方・考え方、専門的知識等を理解出来るものだった」の質問に対して、約 94% (30 名) の受講者がそう思うと答え、「授業方法は、授業内容をよく理解出来るように工夫されていた」では、約 91% (29 名) がそう思うと回答した事より、受講者がプログラムの内容・方法に対して高い評価を示した。

図 10 に示すように第一段階の構造決定に関する事後テストでは、 $^1\text{H-NMR}$ ・IR・MS の三つの情報から推定される構造式を 40.6% (13 名) の受講者がエタノール (示性式 $\text{C}_2\text{H}_5\text{-OH}$) と導き出した。

(情報1) $^1\text{H-NMR}$ では、以下の水素が存在している。
 1.29ppm(三重線, $J=7.2\text{Hz}$, 3水素)
 3.64ppm(四重線, $J=7.2\text{Hz}$, 2水素)
 4.97ppm(一重線, 1水素)



(情報2) IRでは、 3331cm^{-1} に水酸基の吸収が存在している。



(情報3) MSでは、化合物の分子量46.0419、分子式 $\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$ である。

図 10 第一段階の構造決定に関する事後テスト問題

第二段階の合成に関して、「(1) の合成における反応の仕組み (機構) を説明しなさい」では、フィッシャーのエステル合成の機構に基づく記述により、78.1% (25 名) の受講者が正解を導き出した。化学的反応性に関して、「(1) のアルカリ加水分解反応の機構を説明しなさい」では、水酸化物イオンによるケトン基への求核付加後のアセトキシ基の脱離の記述が多く見られ、75.0% (24 名) の受講者が正解した。また、第四段階の抗酸化活性に関して、「QRT 分子中のフェノール性水酸基と抗酸化活性の関係を説明しなさい」では、QRT 関連化合物の抗酸化活性がフェノール性水酸基の化学変換による構造変化に関与している記述が見られ、68.8% (22 名) の受講者が正解に至った。更に、実験レポートでの広領域の観点における考察には、「第二・三段階は、化学の中の有機や無機など様々な領域が関連していた」、「錯体反応と染色は関係が深く、美術と化学の両面で考える事が出来た」、「身近な食品に含まれる抗酸化物質を幾つかの教科や科目から考える見方が身に付いた」という記述が見られ、広領域的な考え方が受講者に根付いている側面が伺えた。

以上の事から、タマネギ外皮を用いた広領域型科学実験プログラムの試行的検証は、広領域の枠組みを把握しながら、受講者が実験・実習を通して、有意差の認められる肯定的内容理解に結び付いた結果を基に、本プログラムの教育的な効果が評価出来たと考えられる。

VI おわりに

本研究は、抗酸化活性を有する実験試料としてタマネギの外皮を捉えると共に、単離した QRT を用いた関連化合物の合成と化学的な反応性及び抗酸化活性に注目し、教科・領域との連携を図りながら、科学的に実証する様々な実験を通して、学習者の科学的な探究力の育成を目指した広領域型科学実験プログラムを開発した。本研究では、理科教員を目指す学部学生を対象として、化学領域を中心に展開した。本プログラムは、視点を変える事により、生物学におけるタマネギの栽培や細胞と毒性の関係、家庭科での食物における調理実習や遺伝子組み換え食品の考察等、生物学を中心としたプログラムへと展開・応用する事も可能であると思われる。

現在、科学技術振興機構 (JST) のサイエンス・パートナーシップ・プロジェクト (SPP) において、本プログラムを体験した受講生がティーチング・アシスタントとして参加し、理系を目指す高校生を対象として、本広領域型科学実験プログラムを用いた教育連携による実践を進め、教育的な効果を確認している所である。

— 注 —

1 刺激性・有害性を指摘されている物質を含むので、

直接の吸引や接触する事を避け、換気に注意してドラフトチャンバー内で取り扱う。

2 本ソフトは富士通株式会社の製品である。富士通株式会社との共同研究により、本ソフトの試供品の教育的利用の許可を得ている。

－ 参考・引用文献等 －

- (1) 中央教育審議会「21世紀を展望した我が国の教育の在り方について（第一次答申）」、第4章 科学技術の発展と教育、2006
- (2) 原 英光, 早藤幸隆, 村田勝夫, 山下伸典, 今倉康宏「科学的に探究する能力と態度を育てる化学教材の開発（Ⅰ）－茶葉を用いた化学実験プログラムの開発－」『化学と教育』47(6), pp.412-415, 1999
- (3) 早藤幸隆, 中川存, 今倉康宏「科学的に探究する能力と態度を育てる化学教材の開発（Ⅱ）－インジゴを用いた化学実験プログラムの開発－」『化学と教育』48(12), pp.828-831, 2000
- (4) 早藤幸隆, 増井健人, 高津戸 秀, 今倉康宏「科学的に探究する能力と態度を育てる化学教材の開発（Ⅲ）－アゾ色素を用いた総合化学実験プログラムの開発－」『化学と教育』53(2), pp.94-97, 2005
- (5) 早藤幸隆, 古林伸浩, 高津戸 秀, 今倉康宏「酸化チタンの光触媒作用を活用する環境教育教材の開発（Ⅰ）－ホルムアルデヒドの定量分析と浄化－」『化学と教育』53(4), pp.231-234, 2005
- (6) 早藤幸隆, 砥谷健治, 今倉康宏「身近な有機化合物の酸化還元反応を用いた広領域型科学実験プログラムの開発と実践」『日本教育実践学会研究大会年論文集』9, pp.25-28, 2006
- (7) 早藤幸隆, 砥谷健治, 鈴木亜寿華, 森義雄, 吉坂保徳, 今倉康宏「中学・高校生を対象とした広領域型科学実験プログラムの実践」『日本科学教育学会年会論文集』29, pp.441-442, 2005
- (8) 早藤幸隆「光触媒（酸化チタン）を活用する環境教育教材の開発と教育現場への展開」『日本化学会西日本大会講演要旨集』, p121, 2008
- (9) 今倉康宏「将来の科学技術を担う児童・生徒の養成を支援する広領域型科学実験教材の開発と実践」『科学教育研究』31(1), pp.36-37, 2007
- (10) 早藤幸隆, 橋本佳織, 砥谷健治, 豊岡修, 門愛子, 今倉康宏「小学生親子のための身近なビタミンCを用いた酸化還元反応を考える広領域型科学実験プログラムの実践」『日本教育実践学会第9回研究大会論文集』, pp.93-94, 2006
- (11) 砥谷健治, 早藤幸隆, 今倉康宏「自作簡易比色計を用いたイチョウ葉含有成分の抗酸化活性評価に関する科学実験教材の開発」『日本化学会西日本大会講演要旨集』, p299, 2007
- (12) Kumari, K. *etal.* Antidiabetic and antioxidant effects of S-methyl cysteine sulfoxide isolated from onions (*Allium cepa* Linn) as compared to standard drugs in alloxan diabetic rats., *Indian J.Exp.Biol.*, pp.1005-1009, 2002
- (13) 有賀豊彦, 加瀬秀「*Allium* 属植物の精油組成と血小板機能抑制との関連性について」『日本大学獣医学部学術研究報告』, pp.43170-43175, 1986
- (14) Fukushima S. *etal.* Cancer prevention by organosulfur compounds from garlic and onion., *J.Cell Biochem.Suppl.*, 27, pp.100-105, 1997
- (15) Wagner, H. *etal.* Antiasthmatic effects of onions: inhibition of 5-lipoxygenase and cyclooxygenase in vitro by thiosulfonates and "Cepaenes"., *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 39, pp.59-62, 1990
- (16) Agarwal, R.K. *etal.* Controlled trial of the effect of cycloalliin on the fibrinolytic activity of venous blood., *Atherosclerosis*, 27, pp.347-351, 1977
- (17) 柳田晃良他「タマネギ成分のニュートラステイカルな作用」『バイオサイエンスとインダストリー』58, pp.855-858, 2000
- (18) Kahraman A *etal.* The antioxidative and antihistaminic properties of quercetin in ethanol-induced gastric lesions., *Toxicology*, 83, pp.133-142, 2003
- (19) Lopez G *etal.* Nitric oxide (NO) scavenging and NO protecting effects of quercetin and their biological significance in vascular smooth muscle., *Mol.Pharmacol.*, 65, pp.851-859, 2004
- (20) 津志田藤二郎「食総研ニュース」52, 1998
- (21) Duarte J *etal.* Antihypertensive effects of the flavonoid quercetin in spontaneously hypertensive rats., *Br. J.Pharmacol.*, 133, pp.117-124, 2001
- (22) Anjaneyulu M *etal.* Quercetin, an anti-oxidant bioflavonoid, attenuates diabetic nephropathy in rats., *Clin. Exp.Pharmacol.Physiol.*, 31, pp.244-248, 2004
- (23) Lu J *etal.* Inhibition of Mammalian thioredoxin reductase by some flavonoids: implications for myricetin and quercetin anticancer activity., *Cancer Res.*, 66, pp.4410-4418, 2006
- (24) Effects of rutin and quercetin on monooxygenase activities in experimental influenza virus infection., *Exp. Toxicol.Pathol.*, 58, pp.59-64, 2006
- (25) 道家晶子「食品の組み合わせによる抗酸化力の変化」『岐阜市立女子短期大学研究紀要』第53号, pp.125-129, 2004