

身近な物質の定量分析を可能にする教材の開発と

教育実践に関する研究

2014

兵庫教育大学大学院
連合学校教育学研究科

田中 謙介

目 次

序論	1
第1章 理科教育と教材開発	
1-1 戦後の理科教育の変遷	5
1-2 理科への興味・関心と観察・実験および探究的な活動に関わる調査結果	7
1-3 理科教育の現状	8
1-4 探究的な活動を実施する上での障害	9
1-5 探究的な活動と教材開発	10
1-6 探究的な活動を支援する教具の条件	12
1-7 教師の支援	13
1-8 実験形態	14
第2章 レーザー光を用いた自作吸光光度計による水の吸光度測定	
2-1 はじめに	16
2-1 水の吸光度測定	16
2-3 測定原理	18
2-4 装置の製作	20
2-4-1 装置の構造	
2-4-2 装置の安定性の検討	
2-4-3 受光部の温度特性	
2-5 実験方法	24
2-6 結果と検討	24
2-6-1 吸光係数の算出	
2-6-2 本装置の教材化	
2-7 教材の発展	29
第3章 レーザー光を用いた自作装置による環境水の濁度測定	
3-1 環境学習を支援する教材開発	30
3-2 自作濁度計の構造	31
3-3 測定原理	33
3-4 検量線の作成	34
3-4-1 標準液	
3-4-2 測定方法	
3-5 河口流域の濁度調査	36

3・5・1	海水の濁度成分	
3・5・2	調査計画	
3・5・3	結果および考察	
3・6	自作教材の意義	44

第4章 レーザー光を用いた自作屈折計による油脂の分解反応の測定

4・1	教材としてのリパーゼによる油脂の分解反応	45
4・2	グリセリンの定量	45
4・2・1	グリセリンの溶液の濃度と屈折率の関係	
4・2・2	簡易屈折計の原理	
4・2・3	簡易屈折計の製作	
4・2・4	グリセリン溶液の検量線	
4・2・5	グリセリン定量のための基礎実験	
4・3	油脂のリパーゼによる分解反応	53
4・3・1	実験方法	
4・3・2	滴定法による脂肪酸の定量	
4・3・3	屈折法によるグリセリンの定量	
4・3・4	実験結果と考察	
4・3・5	屈折法と酵素法の比較	
4・3・6	消化酵素入り胃腸薬を用いた実験	
4・4	部活動における実践	60
4・5	教材としての可能性と課題	62

第5章 自作蛍光光度計の製作と教材化

5・1	身近な物質の定量化に向けた取り組み	63
5・2	自作蛍光光度計に関する研究	65
5・3	蛍光光度計の製作	66
5・4	低濃度における測定の原理	68
5・5	検量線の作成	70
5・5・1	リボフラビンの検量線	
5・5・2	フルオレセインの検量線	
5・6	授業実践	75
5・6・1	授業の概要	
5・6・2	生徒による測定結果と考察	
5・6・3	質問紙調査の結果と考察	
5・7	まとめ	82

第6章 食品に含まれるビタミンB ₂ の定量分析の試み	
6・1 食品中のビタミンB ₂	83
6・2 食品に含まれるビタミンB ₂ の定量法	84
6・3 自作蛍光光度計の改良	84
6・4 検量線の作成	86
6・4・1 試薬	
6・4・2 測定の条件	
6・4・3 測定方法	
6・4・4 結果と考察	
6・5 試料溶液の作成	87
6・5・1 試薬	
6・5・2 作成方法	
6・6 食品中のリボフラビン含量	88
6・6・1 測定試料	
6・6・2 測定方法	
6・6・3 結果および考察	
6・7 試料の蛍光スペクトル	94
6・8 まとめ	96
第7章 蛍光光度法による錠剤中のアセチルサリチル酸 (ASA)の定量	
7・1 教材としてのアセチルサリチル酸 (ASA) の定量分析	98
7・2 滴定法によるASAの定量	98
7・2・1 原理	
7・2・2 準備	
7・2・3 実験方法	
7・2・4 結果	
7・3 蛍光光度法によるASAの定量	101
7・3・1 SAの分析原理	
7・3・2 高濃度における測定の原理	
7・3・3 装置の構造	
7・3・4 SAの検量線	
7・3・5 アスピリン錠剤の定量分析	
7・4 授業実践による実験教材の検証	107
7・4・1 医薬品中のASAの定量分析	
7・4・2 蛍光分析法を用いた教材の授業計画	
7・5 まとめ	112

第8章 自作蛍光光度計を用いたビタミンB ₁ の分解速度の測定	
8-1 反応速度実験の教材としての扱い	114
8-2 チアミンの定量	116
8-2-1 チオクローム反応	
8-2-2 装置の製作	
8-2-3 チアミンの検量線	
8-3 チアミンの分解反応の測定	120
8-3-1 チアミンの分解反応	
8-3-2 反応速度定数の求め方	
8-3-3 分解速度の測定実験	
8-4 授業実践	125
8-4-1 授業の目的	
8-4-2 対象生徒	
8-4-3 実施内容	
8-4-4 評価方法	
8-4-5 授業実践のまとめ	
8-5 おわりに	133
第9章 ビタミンB ₂ の定量分析をテーマにした課題研究	
9-1 授業計画	134
9-1-1 対象生徒	
9-1-2 計画案	
9-2 授業内容と実践結果	137
9-3 実践の評価	143
9-3-1 一学期終了時の評価	
9-3-2 二学期終了時の評価	
9-3-3 感想にみる生徒の意欲・関心	
9-4 まとめ	148
総括	149
謝辞	152
引用文献および註	153

序論

平成 25 年度から高等学校においても新学習指導要領の全面実施が始まった。今回の改訂の背景にはOECDのPIISA調査などから我が国の児童生徒について、思考力・判断力・表現力等を問う読解力や記述問題、知識・技能を活用する問題に課題があるとされ、それらの解消に向けて基礎的・基本的な知識・技能の習得、思考力・判断力・表現力等の育成が基本的な考え方の1つとなっている。これを踏まえて理科の基本方針は、科学的な知識や概念の定着を図り、科学的な見方や考え方を育成するため、観察・実験や自然体験、科学的な体験を一層充実する方向で改善することとなっている。

戦後の理科教育の変遷を辿るとき、系統的な知識の習得に重きをおくか、問題解決能力の育成を重視するかの間で揺れてきた様子が見て取れるが、近年の学習指導要領の方針は科学的な見方や考え方に基づく問題解決能力の育成に重点を置きながら、体系的知識の充実に配慮するというバランスの中にあると言える。

問題解決能力の育成のため、探究的な活動を重視する姿勢は旧課程の学習指導要領からそのまま継続されている。新学習指導要領では、各科目において探究活動を充実させるとともに、「理科課題研究」を新たに設置した。しかしながら、学校現場での普及・実践は十分とは言えない。その原因には時間の不足や受験のための座学中心主義があるがそれらに加えて筆者は適切な教材・教具の不足があると考えている。

改めて課題研究の目標を記せば、「自ら設定した課題の解決に向けて、適切な観察、実験の方法を考案・実施し、結果を考察するなかで問題解決能力を身につける」ということになる。そこで求められる教材・教具とは特定の課題に向けてのものではなく、生徒の設定する様々な課題の解決に役立つ道具＝測定方法とそのため機器と言える。化学領域を中心に考えれば、重量分析や滴定法は無論重要であるが、その他様々な機器分析（紫外可視吸光分析、蛍光分析、屈折率測定等）が活用可能であれば研究課題の自由度は随分と広がる。分析機器の活用についてはその価格がなによりの障壁であり、生徒の求めに応じて容易に購入できるものではなく、そのため目的に応じた自作装置の開発が必要となる。

本論文の主題は探究的な活動に広く活用できる安価で自作可能な測定機器の開発にある

が、その新規性は以下の3点である。

1. 自作の吸光度計についての報告は多いが、本論においては水の吸光度や海水の濁度変化といった極めて微少な吸光度変化の測定をレーザー光を用いた自作装置によって実現し、それを用いた具体的な教材としての提案をしたこと。
2. レーザー光を活用した簡易屈折計の教材化については市販飲料水中の糖分測定の実践例が報告されているが、さらなる応用実践として油脂のレパーゼによる分解反応の測定を可能にするための新たな測定方法を提示したこと。
3. 簡易な構造による自作蛍光光度計を用いて身近な蛍光物質の分析が可能であることを示し、授業実践のなかでその教材としての有効性を確認したこと。

特に3.の自作蛍光光度計の教材化に関しては、クロロフィルの定量等いくつか基礎実験の報告はあるもののその構造は生徒に自作させるには複雑で、授業実践の報告は極めて限られている。本装置は実験を重ねるごとに改良し、第8章で用いた装置では本体にわずか6つの部品しか要せず、その部品の加工についても極めて単純である。第9章では生徒に装置を自作させるところから始める課題研究の実践例を報告する。

以下、章ごとの内容を要約する。

第1章では、戦後から現在にいたる学習指導要領を概観し、教科目標の1つである問題解決能力育成の手段として探究活動や課題研究が改訂ごとにその重要性を増している点に触れる。その一方で、教育現場では探究活動が有効に実施されていない実態があり、その原因として教員の時間不足のほかに適切な教材やその情報の不足があることに触れ、教材として必要な要素について述べる。

第2章、第3章では Lambert-Beer の法則に基づく吸光度測定を扱っている。第2章は、光と色の関係について学ぶ単元の中で「水はなぜ青いか」という素朴な疑問に水の吸光特性から答える1つの試みであり、これを実現するために110 cmの塩化ビニル管に精製水を蓄え、その中にレーザー光を透過する装置を考案した。受光部は光電池を使用した。水深が深くなるにつれ、赤色光(670 nm)は緑色光(532 nm)よりも透過光強度の減衰が顕著に認められ、赤色光については吸光係数 $\epsilon = 3.5 \times 10^3$ を得た。この値は E.O.Hulburt(1945)のものともよく一致する。この装置を用いた授業案も提案する。第3章では環境水の微少な濁度変化を測定できる装置を製作した。濁度の構成粒子は放置すると会合等により濁度

が変化しうるので現地で測定できる投げ込み式とした。長さ 30 cm の塩ビ管の一端に反射鏡を取り付け、レーザーモジュールと受光部である光電池を他端に配し、レーザー光は鏡で反射され光電池を照射する構造とした。これにより光路長は管長の 2 倍となり、より微少な濁度変化に対応できるものとなった。海水の干満につれて河口域の濁度がどう変化するかの実践事例も合わせて報告する。

第 4 章ではレーザー光の指向性の高さを利用して溶液濃度を測定する屈折計について報告する。三枚のスライドガラスをプリズム状に配した容器にレーザー光を当てると容器内の溶液濃度に応じて屈折角が変化する。それに依りて後方スクリーン上のレーザー光の光点が移動することを原理としている。この装置を用いてリパーゼによるオリーブ油の分解反応を、生成されるグリセリン濃度の変化から測定したところ、この屈折法から求めたグリセリンと滴定法で求めた脂肪酸の物質質量比は約 1:3 と理論値に近い値を得た。この教材については理科部の活動内容も報告する。

第 5 章以降は吸光光度法よりも感度に優れる蛍光光度法について述べる。

第 5,6 章では身近な物質としてビタミン B₂ を取り上げる。ビタミン B の教材としての価値は化学のみならず、栄養素としての視点から生物や家庭科さらには保健体育にも及ぶ教科横断的な幅広いものである。分析には自作した簡易蛍光光度計を用いた。少ない材料、単純な構造ながら、分析に十分な精度を確保している。

第 7 章ではアスピリン錠剤に含まれるアセチルサリチル酸の含量を、加水分解して生じるサリチル酸の蛍光測定から求める教材の報告である。基礎実験では滴定法と同等の良好な結果を得た。この教材については高大連携事業のなかで高校生 9 名が実習をおこなった。質問紙調査の結果についても述べる。

第 8 章ではビタミン B₁ の加水分解の速度測定について述べる。時間経過にともなうビタミン B₁ の濃度は減光してゆくビタミン B の蛍光強度から求められる。この分解反応はビタミン B₁ 濃度に比例する一次反応であり、測定データより速度定数 k を求めることができた。これについては理系 3 年生を対象に行った実験事例を紹介する。

以上開発した測定機器の、教材として期待される要素には、①操作性の良さ ②測定原理のわかりやすさ ③測定精度の確保 ④興味関心の喚起 が挙げられる。自作蛍光光度計については生徒一人一人に部品を与え、装置を自作させるところから授業を展開したと

ころ、生徒の測定結果や事後の質問紙調査から①～④のいずれに対しても良好な結果が得られた。

定量実験は観察する対象を客観的に記録するための基本的作業であり、これによって数値的な比較や検討が可能になる。これは科学的な見方の根幹をなすものであり、そこから考察を深化させることが探究活動や課題研究の目的とするところである。それ故、開発した測定機器に求められる要素は上記①～④であっても、それを満たす装置を開発したことをもって本論文の目的を達したことにはならない。これら装置を用いて探究的な活動を実践し、生徒のパフォーマンスや考察内容を検討することが必要となる。その意味で第9章では自作蛍光光度計を活用した課題研究について論じる。1年間の活動を通じて、彼らの自由記述から定量分析の困難さや操作に習熟していった実感や実験そのものへの関心の高さは読み取れるが、考察内容はまだ表層的段階である。しかし、科学的考え方が容易に身につくことは考えにくくこうした取り組みを継続してゆくことで少しずつ身に付いてゆくと考えるのが妥当であろう。

なお、高等学校では新教育課程が平成25年度から全面実施されるようになったが、本論文中では従前の教育課程についての記述が多い。これは本論文が2002年から始まる十数年の研究内容から構成されており、教材開発はその時期の教育課程が定めるねらいを背景にしているからである。ただし、新教育課程において探究活動や課題研究については一層充実させる旨明記されており、本研究の重要性はいささかも色あせてはいないことを付記しておく。

第1章 理科教育と教材開発

1.1 戦後の理科教育の変遷

理科教育における観察・実験の位置付けは、戦後日本が歩んできた理科教育の変遷と密接に結びついている。よって、これからの観察・実験の目的を考えると、この60年間の理科教育の歩んできた道のりを振り返る必要がある。

戦後最初の高等学校学習指導要項（試案）は昭和23年であるが、それを改訂・編修した昭和26年の高等学校理科編学習指導要領（試案）¹⁾の物理、化学、生物、地学の目標では実験についての記述がある。化学を例にとると「観察・実験・測定・記録などの技能を高める。」「いろいろな化学器具を使ってみずから実験を行ったり、あるいは教師の示す実験を見たりして、科学の基礎技術に関する知識や能力を習得する。」とある。14項目にわたる内容の中で直接観察・実験に触れているのはこの2項目だけである。理科の指導計画の中では次のように記されている。「講義と実験・観察を交互に組み合わせた方法は、知識・技術の獲得には有力な一方法であるといえる。しかし、みずから問題を見いだす能力や問題解決の計画をたてる能力を、このような指導方法によって高めることはできない。また、資料を集めたり、自分から装置をくふうして実験を行ったりして問題を解決していく経験を与えることもむずかしい。」この学習指導要領に基づく教育は「生活単元学習」と呼ばれ、理科においても生徒の生活に必要なもの、社会が生徒に望むものを身につけさせるという立場から、自然科学の内容を選択することが求められ、科学的思考力を生活に役立てることが目標とされたが、この段階では観察・実験への期待は大きくなかったことが文面から推測される。

生活単元学習は、なぜ理科を学習しなければならないのかという疑問に対し明快な答えを与えたが、一方でこどもの知識が断片的で系統性に欠けるという批判が強まった²⁾。こうした批判を受けて昭和35年の学習指導要領³⁾では基本的事項の充実と各事項を相互に関連づけ、系統的な理解が得られることを目指す「系統学習」が導入された。必修単位数もそれまでの2科目6単位以上から4科目12単位以上（普通科）となり、理科にとっては手厚いカリキュラムとなった。この時期の実験については理科の目標にこう記述が

ある。「自然の事象を実験・観察などを通して考察し処理する能力と態度を養う。」また、各科目の指導上の留意事項には「できるだけ広く実験・観察を通して学習させるようにする。実験・観察は、次のような諸点に留意して選定する。」として「ア. 重要な原理や法則と結びついた基本的なものであること。(以下省略)」とある。総合するに実験・観察を広く行うことを奨励し、問題解決能力の育成も目指してはいるが、実験内容は学習事項の範囲に限り、実験の形態も原理・法則の理解の助けとなる確認実験を念頭に置いていたものと思われる。

昭和 45 年の学習指導要領⁴⁾ではアメリカの科学教育現代化の影響を受けて、探究の過程を重視するいわゆる「探究学習」が導入された。探究の過程とは「(自ら)問題を見だし、観察や実験を行い、情報を集め、推論し、仮説を立てて、検証を行う」一連の学習過程を指し、観察や実験を行うなかでその実践が求められた。ただし、当時の探究学習は実践段階において子供の実態にそぐわなかったり、探究の手順が形式的になったりして、理科嫌いを増加させるなど十分な成果を上げることはできなかった⁵⁾。一方では、系統学習も継続し、基本的な科学概念や原理・法則を理解させることを目標としていた。

昭和 53 年の学習指導要領⁶⁾では物理、化学、生物、地学分野の合科による「理科Ⅰ」が新設され必修となった。このとき同時に「理科Ⅱ」が設置され、その目標は、「自然界にみられる事物・現象や科学の歴史的事例などについて課題を設け、それらの探究を通して科学の方法を習得させ、問題解決の能力を養う。」とあり、その内容は観察・実験、環境調査などからなり、現行の「理科課題研究」に通じるものがある。ただし、実際にはこの「理科Ⅱ」を設置した学校は少なかった⁷⁾。

平成元年の学習指導要領⁸⁾における理科の目標では「観察、実験などを行い、科学的に探究する能力と態度を育てる」とあり、これまでの「観察・実験などを通して」から一層観察・実験が重視されるようになった。探究学習の基本理念はそのまま継承され問題解決能力の育成のための1つの柱となった。たとえばⅠBを付した科目において探究活動が、Ⅱを付した科目では課題研究が設定された。探究活動、課題研究では仮説の設定、実験計画、実験による検証、データの解釈など科学的に探求する方法を習得し、創意ある研究報告書の作成を求めている。

平成 11 年の指導要領⁹⁾では、完全 5 日制への移行に伴い履修内容の大幅な削減・集約

がなされた⁷⁾。理科の目標では探究的な学習をより一層重視する観点から従前の理科の目標にはなかった「探究心を高め」という言葉が入った。各科目については、Ⅰを付した科目において探究活動が、Ⅱを付した科目では課題研究が設けられ、従前の指導要領を引き継ぐかたちとなっている。これらの探究的な活動については、『自分の力で解決する方法を見いだす能力の育成は、観察、実験を中心とする「探究活動」「課題研究」の実践を通してはじめて身に付くものである。したがって、教科書に記されたとおりに実験器具を扱い結果を得るだけでは、その目標は達成できない。』と記し、観察・実験が、学習内容の確認に留まることのないよう強調している¹⁰⁾。

平成 21 年の学習指導要領（現行）¹¹⁾のもとでは、理科は科学的な知識や概念の定着を図り、科学的な見方や考え方を育成するため、観察・実験や自然体験、科学的な体験を一層充実する方向で改善するとされた。従前の「Ⅱを付した科目」の中に位置づけていた「課題研究」についても、その一層の充実を図るため新しい科目「理科課題研究」が設置され、大学や研究機関、博物館などとの連携が可能なように特定の期間に集中して実施することも可能としている¹²⁾。

こうして戦後からの理科教育と実験の位置づけを概観すると、重心の置き方は時期によって異なるが、一貫して問題解決能力の育成が重視されてきたことに気づく。再び昭和 26 年の学習指導要領、理科の目標から抜粋するが「学校を卒業し社会に出てからも、よき社会人・職業人・家庭人としてみずからを向上させ、常に科学的判断と行動ができ、生活を豊かにしていくことのできる人をつくることこそ、最もたいせつな教育の目標」は現行の学習指導要領で強調する「生きる力」の育成と基本的には同一の目標と考える。そして、昭和 45 年以降、観察・実験、特に探究活動や課題研究がこの問題解決能力の育成を促す方法として特記されるようになり、年々その重要度が増してきていると言えよう。

1・2 理科への興味・関心と観察・実験および探究的な活動に関わる調査結果

TIMSS (Trends in International Mathematics and Science Study) 2011 の結果をみると日本の中学校 2 年生における理科の好きな程度について「理科は好きではない」生徒は 38 % であり、これは国際平均値 20 % と比べて高い。また、理科の授業に参加する程度についても日本では「参加していない」生徒が 59 % で、これも国際平均値 21 % よりかなり高い

¹³⁾。

茨城県教育研修センターが1998年に実施した「理科における創造性に関する実態調査」¹⁴⁾では「理科の授業が楽しいですか」に対し高校生では「楽しくない」が31.7%で小学生(7.1%)中学生(7.0%)に比べ増加しているが、「楽しい」と答えた生徒に理由を聞くと「観察や実験」と答えた生徒の割合が最も高い。また、観察、実験への興味・関心についての質問では「興味がない」と答えた高校生は18.9%と理科について質問した場合よりも低い。

国立教育政策研究所が平成21年に発表した「高等学校理科教員実態調査」¹⁵⁾によれば、理科を教える教員が、自分の担当する授業において、生徒の「約60%」以上が好きだと感じていると回答した割合は、小学生では6～8割、中学校では約4割、高等学校(普通科)では約1割となる。一方、生徒による観察や実験が行われる回数の程度は、「週は回」以上について小学校では6～9割、中学校では約6割、高校では約1割かそれ以下である。

国立教育政策研究所が平成16年に全国の公立学校を対象に行った「科学への学習意欲に関する実態調査」¹⁶⁾をみると理科の課題研究を経験した児童生徒の方が、科学への学習意欲について調査した項目の大半で統計的に有意に高い傾向を示している。また、課題研究を体験した生徒は、未体験の生徒よりも「理科を学習すれば疑問を解決したり予想を確かめる力がつく」に対してより肯定的回答をしている。

こうして見ると日本の生徒の理科に対する興味、関心は小学校、中学校、高校となるにつれて低下する現状があるが、実験・観察については魅力があり、課題研究等を実施することで理科についての興味関心も高まることが推測される。さらには学習指導要領が期待する問題解決能力の育成に課題研究等が一定の役割を果たしうることは生徒の実感から裏付けられるといえよう。

1・3 理科教育の現状

学習指導要領では重視し、実施することが求められている探究活動や課題研究であるが、教育現場での実施状況はどうなっているのだろうか。

生徒を対象とした調査では、先の「科学への学習意欲に関する実態調査」(国立教育政策研究所)¹⁶⁾がある。これによると高校では3～4割の生徒が理科の探究活動や課題研究

を体験していないと回答している。やや古いデータになるが、1998年の「理科における創造性に関する実態調査」（茨城県教育研修センター）¹⁴⁾では県内の高校生297名を対象として次のような結果が出ている。「観察・実験の前に調べたいことを見つけようとしていますか」で66%が否定、「観察・実験前に仮説を立てていますか」で43%が否定、「自分で考えた方法も取り入れて実験・観察をしていますか」で86%が否定的回答をしている。つまり、これらの調査結果は高等学校においては探究的な活動が必ずしも定着していない実態を示している。

学校教員を対象とした調査では、「平成20年度 高等学校理科教員実態調査」（国立教育政策研究所）¹⁵⁾が詳しい。「理科授業に日頃から力を入れている」教員は7～8割で、「実験の知識、技術がある」との自己評価も6～8割であるものの、月に1～3回程度以上実験をおこなっている割合では4割未満（地学Ⅱを除く）と低く、探究的な活動や課題研究の指導を重視しているかに肯定的な教員も普通科で1～2割である。そして、探究的な活動や課題研究に割り当てている時間数が年に「3時間以下」の教員の割合は地学Ⅱ以外の教科では6～8割と実質ほとんどの学校で実施されていないのが実態である。

1・4 探究的な活動を実施する上での障害

高等学校において探究的な活動を実施するに当たり、障害として考えられるものを以下に挙げる。

- ①授業時数に限りがあり、実施する時間がもてない。
- ②進学対策のため、座学中心にならざるをえない。
- ③情報・技能不足から教師が適切に支援できない。
- ④実験教材・教具が不足している。

先の「平成20年度 高等学校理科教員実態調査」から関連項目を拾ってみると、やはり①②をあげる教員の割合は高い（物理Ⅱ，化学Ⅱ，生物Ⅱで6～8割）。③については「探究的な活動の指導技術が十分である」に自己否定的な教員は4～6割となっている。

④については「設備備品の不足」として3割～5割の教員が理由としてあげており、これからどのような情報入手に期待するかとの質問には「最先端の科学技術に関する情報」と並んで「すぐ使える優れた教材情報」が8割以上となっている。

1・5 探究的な活動と教材開発

探究的な活動としての実験を計画するとき、以下の2点が重要と考える。

- ① 定量実験であること。
- ② 身近な物質や現象をテーマとすること。

定量実験については測定値と参照値（理論値や文献値）の不一致の解釈が困難との理由で、近年学校現場では削減の一途をたどっているとの報告もある¹⁸⁾。しかし、自然の事物や事象を測定し、事物や事象間の関係を定量的に比較するなかから、相互の新たな関係を発見することが自然科学の手法であり、「科学的な見方や考え方」を養うことを目標とする現行の指導要領の下においては、定量実験は一層重要視されるべきである。高等学校指導要領解説の中の、たとえば「化学基礎」の探究活動の取り扱いに関しては「情報を収集し、それらを適切に処理して規則性を発見したり、（以下省略）」「コンピュータや情報ネットワークを活用するに当たっては、情報の収集・検索、結果の集計・処理など探究活動の有用な道具として活用するよう配慮する。」とあり、これらは定量実験を念頭に置いているものと考えられる。

身近な物質や現象を扱うことについては、生徒にとって親しみやすい対象のほうが興味や関心をもって研究に打ち込めるというだけではなく、科学的な考え方を実生活に応用できる力を育むうえでも重要な点である。現行指導要領において、たとえば「化学基礎」の目標においても「身近な物質とその変化の中から問題を見だし、観察、実験を中心に問題を解決していくという探究の課程をたどらせることによって科学の方法を習得させ、化学的に探究する能力と態度を育てる」と謳っている。

この視点で旧課程の教科書に紹介されている課題研究のテーマを概観すると、確かに定量的手法による身近な物質の分析や環境調査に関わる内容がよく取り上げられている（表1・1）。現行では課題研究は「理科課題研究」にまとめられたため、教科書に紹介されている実験は章末ごとにまとめられ、ほぼ履修内容に準じたものに限られているが、それでも探究活動のなかで若干取り上げられている（表1・2）。また、「理科課題研究」の課題の例として高等学校指導要領理科編では、(1)特定の自然の事物・現象に関する研究として「茶からカフェイン、柑橘類からクエン酸やビタミンCなど、天然物から成分物質を抽出し、再結晶等で精製したり、容量分析により定量したりして天然物の成分について研究

する。」を、(3)自然環境の調査に基づく研究では「河川・湖沼水の化学的酸素要求量、陰イオン系界面活性剤濃度等や、大気中の二酸化窒素・浮遊粒子状物質濃度等の継続的測定」を挙げている。

定量分析法としては、滴定法あるいは簡易検査キット（パックテスト）による比色法が教科書では紹介されているが、本来微量の定量を精度よく測定するためには機器分析が必要となる。高価な分析機器の使用は高等学校以下においては困難であるとの配慮がみられるが、これも自作の装置を工夫することで対象物質を十分に測定することが可能である。先行研究において簡易の比色計など数々の開発例と授業実践例が報告されている¹⁹⁾²⁰⁾²¹⁾²²⁾

36)。

表 1・1 「化学Ⅱ」（旧課程）の教科書に掲載されている課題研究の内容
（身近な物質の定量分析や環境調査に関わるもの）

東京書籍	<ul style="list-style-type: none"> ○沈殿滴定法による食品中の食塩含有量の分析 ○ビタミンCの性質と定量 <ul style="list-style-type: none"> ・インドフェノールによる滴定 ○水質調査 <ul style="list-style-type: none"> ・簡易水質検査キットによる COD 測定 ・過マンガン酸カリウムを用いた酸化還元滴定法による COD 測定
数研出版	<ul style="list-style-type: none"> ○身近な自然の水や飲料水の水質調査 ○土壌の成分分析 ○河川水の BOD,COD,pH 測定 ○酸性雨の調査 ○空気の汚染度 <ul style="list-style-type: none"> ・空気中の窒素酸化物や硫黄酸化物の濃度測定法の調査 ・シックハウスの原因物質, VOC についての調査 ○金属の回収実験
第一学習社	<ul style="list-style-type: none"> ○河川の COD 測定 <ul style="list-style-type: none"> ・過マンガン酸カリウムを用いた酸化還元滴定法 ・簡易水質検査キットによる測定 ○大気中の二酸化窒素の量の測定 <ul style="list-style-type: none"> ・ザルツマン試薬による比色法 ○レモン果汁中のクエン酸の含有量測定 <ul style="list-style-type: none"> ・カルシウム塩として分離し定量
実教出版	<ul style="list-style-type: none"> ○ビタミンCの性質と定量 ○降雨の酸性度測定 ○河川のCOD測定 <ul style="list-style-type: none"> ・過マンガン酸カリウムを用いた酸化還元滴定法 ・簡易水質検査キットによる測定
啓林館	<ul style="list-style-type: none"> ○食品中の塩分測定 ○食品添加物の分析(比色法) ○頭痛薬のアセチルサリチル酸の定量(滴定法) ○水質検査, 合成洗剤の定量(比色法)

表 1・2 新課程「化学」の教科書に紹介されている探究活動の内容

(身近な物質の定量分析や環境調査に関わるもの)

東京書籍	○溶存酸素量 (DO) の測定 ・ヨウ素滴定法 ○果汁中のビタミンCの定量 ・インドフェノールによる滴定
数研出版	該当項目なし
第一学習社	該当項目なし
実教出版	該当項目なし
啓林館	○食品中の塩分量の測定 (硝酸銀による滴定) ○酵素の性質 (最適 pH, 最適温度の測定)

1・6 探究的な活動を支援する教具の条件

探究活動や課題研究が多く的高校で実施されるためには現状1・4で示したとおり、様々な障害があるが、実施されることで理科への興味関心の向上や問題解決能力の育成効果は期待できる。本研究の目的は1・4の①～④の障害のうち、④に当たる探究活動や課題研究に役立つ新しい実験教材・教具の情報提供にある。

生徒の自由な発想から生まれる実験を具現化するには、限られた器具と限られた予算のなかでは当然限界はある。しかし、既製の装置の使用に囚われることなく、安価な素材を用いて目的にあった装置を自作する工夫ができれば可能性は高まる。

「理科実験用教材の条件」として山下(1992)¹⁷⁾は次の8項目を挙げている。

- ①科学的概念相互の関連づけができること
- ②日常生活への応用が期待できること
- ③児童・生徒の発達段階に応じた使用が可能なこと
- ④理科教科内の他の分野にも応用が可能なこと
- ⑤自然科学を基礎とする他教科との連携が可能であること
- ⑥原理が簡単であること

⑦身近で安価な素材の利用が可能なこと

⑧測定精度を高めることが可能なこと

以上8項目を概観すると実験教材の目的が特定の基礎的な法則や物性を理解する手助けになるだけのものではなく、総合的に自然を探究する能力と態度の養成、及び日常生活への応用と人間関係への関わりを認識させるという現行の学習指導要領の目的に合致したものとなっている。また、身近で安価な素材を用い、原理が簡単で測定精度を高められる点は教材の自作を念頭に置いたものであり、これはそのまま、探究的な活動を支援する実験教具の条件とすることができる。さらに付け加えるならば、生徒に自作させることのできる簡単な構造であれば、より測定原理の理解の深化に役立つことが期待され、かつ興味・関心を高める効果も期待できる。

筆者は探究的な活動を支援することを目的とした新たな教材を幾つか開発した。それら教材に用いた自作の測定装置は、以上9つの項目を念頭に開発している。

また、自作した装置の教材としての有効性を検討する上で、授業実践の後に生徒へ質問紙調査を求めているが、その際設定した4つの項目（①操作性のよさ、②測定原理の理解度、③測定精度の確保、④興味関心の喚起）についても以上の項目が参考になっている。

本論文中で報告する装置はいずれも定量分析のための装置であり、いわば新しい物差しを提供しているにすぎない。これらを活用して何をテーマにし、何を測定するかは生徒のアイデア次第であり、それこそが探究的な活動の目的の1つでもある。

1.7 教師の支援

探究活動や課題研究においては、生徒の活動への教員の関わりが重要である。図1.1に教員の支援のあり方を示した。生徒は探究的な活動のあらゆる段階で障害にぶつかりうる。特にテーマの決定に当たっては、本来、生徒が自由に発想すべきものではあるが、現実には幾つかの案を教師は持っておく必要がある。教師はつねに生徒の活動の全容に対し見通しをもって、その都度適切な情報やアイデアを提示できるよう、必要な情報と技能の確保に努める必要がある。

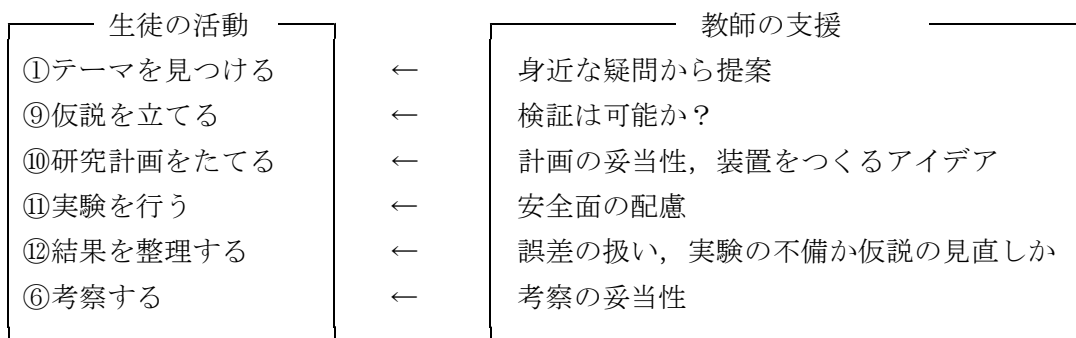


図 1・1 探究活動等における支援

1・8 実験形態

生徒実験は数人で班をつくって実施する班別実験と一人ずつ実験する個別実験に大別することができるが、以下に利点と欠点を列挙する。

<班別実験>

利点

- (1) 複雑な実験を役割分担することで効率よく実験を進めることができる。
- (2) 班内での相談のなかで個々人のもつ不明点を解消できる。
- (3) 互いに意見を出し合うことで充実した考察が可能となる。

欠点

- (1) 学習意欲の程度に差ができ，他人任せにする生徒が生じる。
- (2) 意欲はあっても，設備面で十分に実験に参加できない生徒が生じる。
- (3) 実験のすべてに関与していないため，各自，十分な考察ができない。

<個別実験>

利点

- (1) 生徒一人一人の実験スキルが向上する。
- (2) すべての実験過程を自身でやることにより，詳細な考察が可能になる。
- (3) 実験内容に対する理解が進む。
- (4) 実験に対する達成感が大きい。

(5) 実験に対する興味・関心が強くなる。

(6) 実験に対する集中力が増す。

欠点

(1) 実験の進度に大きな時間的差ができる。

(2) 実験器具の量的確保が困難である。

(3) 準備や後かたづけに時間がかかる。

(4) 実験時の支援には複数の教員が望ましい。

班別実験の利点については可能性として考えられることを記した。班内で十分な共同作業が展開されれば記した利点が望めるが、実態としては欠点に記した側面が顕在化することが多い。一方、個別実験では、技術的側面(1)、認知的側面(2)(3)、情意的側面(4)～(6)で効果が期待される。40名単位での実験では、予算的制約から十分な実験器具の確保が困難であったり、実習助手の削減されるなかで準備に時間のかかる個別実験は教員にとって負担となる。しかし、その教育効果を考えれば少人数クラスのなかで年間1回でも企画することが望まれよう。個別にテーマを決定し実践する探究的な活動では、基本的に個別実験の形態をとることが求められており、限られた時間と教員数の中でそれが困難な場合でも、生徒個々の創意工夫が実験に反映されるようできる限り少人数の班編成で実施することが望ましいと言える。

第2章 レーザー光を用いた自作装置を用いた水の吸光度測定

2.1 はじめに

今回製作した分析装置は Lambert-Beer の法則に基づくものであり、水の吸光特性を測定することを目的としている。光源にはレーザーポインターを用い、受光部には光電池を用いている。測光用にはフォトダイオードの方が適しているが受光面積が小さいため、光路長を大きくとる本章および次章の実験の場合ではレーザー光を受光部に当てるよう調節するのが容易ではない。光電池は小学校から教材に用いられ生徒にとっては馴染みのあるものであり、すでに光の強度と発生する電気量の正の関係については学習を終えている。光電池を受光部に使った教材については、いくつかの報告があり、測定原理についての生徒の理解度は良好との結果が出ている²²⁾。こうしたことから今回の実験では光電池の方が適していると考えた。

実験の目標は「水の色を吸光特性から考える。」としているが、単に光と色の関係を理解するだけの実験ではなく、幅広い考察が可能な教材を目指している。

2.2 水の吸光度測定

自然界は様々な色で満ちあふれているが、なぜ物質に色が生じるのかという素朴な疑問に関して、意外と理科の授業で学習する機会は少ない。色に関わる学習内容を高等学校の理科の教科書から選び出し、その結果を表 2・1 に示した。内容は多岐にわたるが、たとえば化学を例にとると、色の変化によって化学変化を読みとったり、発色から含有される元素や化学種を判断する例のように、色や色の変化は諸現象の理解を助ける手段として扱われている場合が殆どである。

自然界における物質の呈色の原理について言及しているものは表中、下線で表した。物理 I では、「光の性質」のなかで、虹の色を屈折による分散、青空や夕日の色を散乱現象として説明している。物理 I では光は波の一種として捉えており、それゆえ、反射・屈折・分散・散乱・回折などの現象は取り上げているが、物体による光の吸収については扱っていない。これに関しては物理 II における水素原子の線スペクトルの項目で触れられてい

るが、本文で物体の色と光の関係に言及しているのは一部の教科書にすぎない²³⁾。生物Ⅱでは、光合成色素について、緑色である理由をその吸光特性から説明している。結局、物質全般について色を呈する原理を扱っているのは、化学Ⅱでの染料の項目のみである。

表 2・1 教科書の「色」に関わる内容 (旧教育課程)
(東京書籍, 数研出版, 大日本図書, 啓林館, 第一学習社より抜粋)

理科基礎	染料, 細胞の観察 (染色液) 物質の分離 (ペーパークロマトグラフィー) 物質の分析 (炎色反応, リトマス紙, 塩化銀の白濁) など
理科総合A	混合物の分離 (ペーパークロマトグラフィー, 赤ワインの蒸留), 成分元素の検出 (炎色反応, ハロゲン化銀の沈殿), 化合物の分解 (無水硫酸銅の色の変化による水の検出), 酸化 (鉄のさび), 電気分解 (炭素電極への銅の析出など) 酸と塩基 (リトマス紙, 酸性雨の影響を受けた朝顔, 糖類の検出 (ヨウ素液の反応, ベネジクト液の反応) など
理科総合B	オゾン層 (電磁波の波長と可視光), 光合成 (葉緑素の吸収スペクトル), 大気と水の循環 (太陽放射エネルギーの分光特性と可視光の波長領域) 染色体と遺伝子 (細胞観察の染色液) 水質調査 (パックテスト) など
物理Ⅰ	光の性質 (光の色と振動数, 虹のしくみ, 青空と夕日) など
物理Ⅱ	電磁波の種類, 水素原子のスペクトル線 (原子のエネルギー準位と光の吸収), 光電効果と光の波長
化学Ⅰ	炎色反応, pH指示薬, 塩の生成, 酸化還元 (ヨウ素の生成, 過マンガン酸カリウムの還元物質の性質 (ハロゲンの色, ネオンサイン, 2 族元素の沈殿反応, 銅化合物の色, ハロゲン化銀の色), 有機物の合成 (アゾ染料)
化学Ⅱ	染料 (光の吸収と補色の関係, 着色物質の分子構造) 有機化合物の性質 (ニトロソ反応など)
生物Ⅰ	細胞の観察 (染色液), ヨウ素デンプン反応, 原形質分離の実験 (赤いユキノシタの葉を使う) 朝顔の花色やハツカネズミの体色の遺伝
生物Ⅱ	光合成のしくみ (光合成色素の吸収スペクトル) など

一番詳しい教科書では過マンガン酸カリウム水溶液の赤紫色を例に挙げ、吸収波長の色の補色について解説している²⁴⁾。こうした教科書の内容を見る限りでは現在の高等学校の理科教育において「色」についての学習はまだまだ充分とは言えないのが現状である。

以上の事情から、水の色を考えるとというテーマはこの分野の学習を強化する上で、有意義であると考えた。授業のなかで「水は何色か。」を発問すると無色透明と回答する者が多い。この発問には Charles(1993)²⁵⁾の実験で実際に確認させるのがよい。3 m のパイプの一方をガラス板で塞いで縦に立て、中を精製水で満たす。下に白い紙を置き、上から水を透かして見ると緑がかった青色を観察できる。つまり、水は非常に薄いながら青色を呈するのである。これは光学的には水が可視領域において長波長の光（赤色）をより強く吸収することで観察者は補色である青色を認識するためと説明できる。そこで緑色と赤色のレーザー光を水中に照射し、透過光強度の差から水による光吸収の違いを測定する実験を試みることにした。

2.3 測定原理

Lambert-Beer の法則は一般に(1)式で与えられる。

$$\ln \frac{I_0}{I} = \epsilon c l \quad \dots \dots (1)$$

ただし、 I_0 は入射光強度、 I は透過光強度であり、 c は溶液内の分析種の濃度、 l は光路長を示す。 ϵ は分析種の濃度をモル濃度で表した場合の吸光係数である。

水の吸光係数を測定する場合を考えてみる。塩化ビニル製のパイプを縦に置き、底面を透明な板で塞いで中に水を満たし、上からレーザー光を入射させると、下から透過して出てくる光は途中、水の吸収によって減衰する。

この場合、レーザー光の透過する液体は水だけなので c は省略でき、(1)式は(2)式に置き換えられる。

$$\ln \frac{I_0}{I} = \epsilon l \quad \dots (2)$$

透過光強度 I の測定には光電池に生じる短絡電流 A を使用する。光電池では照度 I に対して短絡電流 A はリニアに変化するため²⁶⁾、次式が成り立つ。

$$\ln A = \ln I + a \dots (3)$$

$$\ln A_0 = \ln I_0 + a \dots (4)$$

ただし、 A_0 は I_0 のときの短絡電流値である。

(2) (3) (4) より次式が得られる。

$$\ln \frac{A_0}{A} = \epsilon l \quad \dots (5)$$

ここで光路長を d cm ずつ増加させながら短絡電流値を測定する場合を考える。光路長 l_i のときの透過光強度を I_i とし、このときの短絡電流を A_i 、光路長を d cm 増加させたときの光強度 I_{i+1} に対応する短絡電流を A_{i+1} とすると (5) 式より次の式が成り立つ。

$$\ln(A_{i+1} - A_i) = \ln A_0 (e^{-d\epsilon} - 1) - \epsilon l_i \dots (6)$$

(6) 式より、横軸に l_i 、縦軸に $\ln(A_{i+1} - A_i)$ をとった図を作成すると、傾きから吸光係数 ϵ を求めることができる。

以上より、光源に用いるレーザー光の色を変えることで水の中における光の吸光係数 ϵ が波長の違いによってどう変化するかを求めることができる。

E.O.Hulburt (1945)²⁷⁾ は長さが 364 cm、内径 4.2 cm のガラス管に水を満たし、光源にタングステン電球、射出側にプリズム分光器を置いて実験を行った。彼の求めた蒸留水における吸光係数の分光特性を図 2・1 に示す。

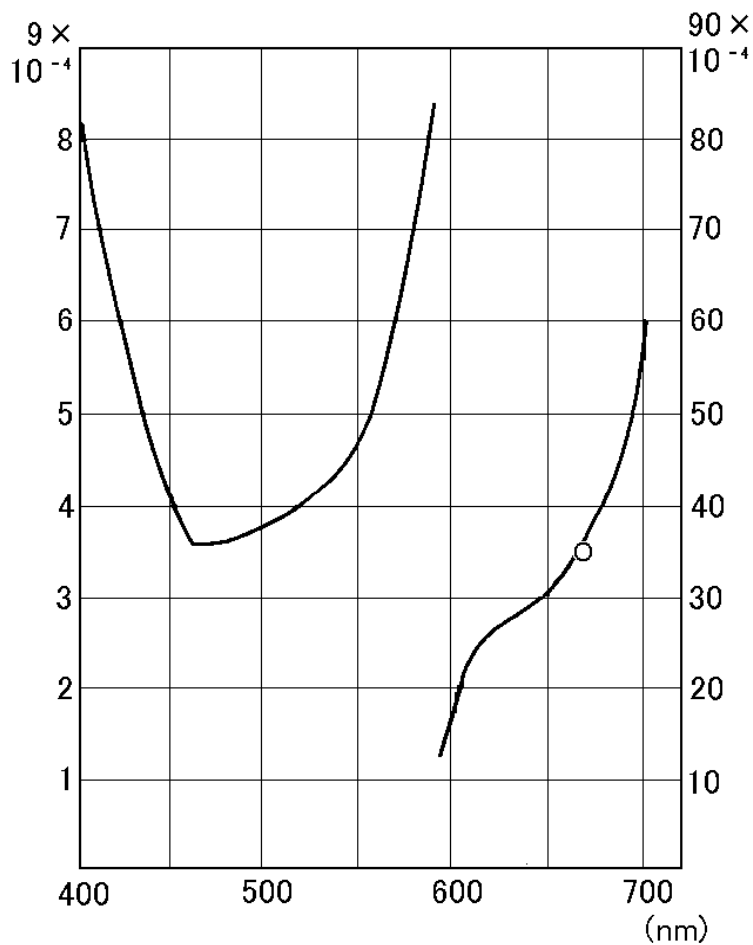


図 2・1 蒸留水の吸光係数 E.O.Hulburt(1945) ○印は筆者の測定値

2・4 装置の製作

2・4・1 装置の構造

装置の概略図を図 2・2 及び図 2・3 に示す。内径 71 mm の塩化ビニル製のパイプ 110 cm をスタンドで縦に固定し、底を透明アクリル板で塞いで水が入るようにする。中の水位が確認できるように底から 5 cm の高さに L 字に曲げたガラス管 (外径 6 mm) をつなぐ。同じく底から 5 cm の位置から給水 (排水) 口として 3 cm の長さのガラス管をつなぐ。これらの接着にはすべて耐水性の接着剤を使用する。給水 (排水) 口は軟質塩化ビニル製チューブで精製水のタンク (18 L) とつなぎ、途中水量調節ができるようにコックを取り付

ける。精製水タンクは床の上か、装置本体より上に設置することで、排水しながらあるいは給水しながらの測定を連続しておこなうことができる。

光源には緑色レーザーポインター（緑色：Kochi Toyonaka Giken Co.,Ltd. GLP-FB, 532 nm, 1 mW 未満）と赤色レーザーポインター（Fuji Corona, ML-670, 670 nm, max 1 mW）を使用し、塩化ビニル製パイプの上部にスタンドで固定する。受光部はアモルファスシリコン光電池（Kyocera, PSC2020, 20 mm × 20 mm, 開放電圧 0.54 ~ 0.57 V, 短絡電流 93.5 ~ 110.0 mA）を用いる。塩化ビニル製パイプの底にスタンドを用いて固定し、水中を透過したレーザー光が光電池の中心に当たるように位置を調節する。光電池の端子をデジタルマルチメーター（ポケット DMMAD-5527 エアノドテイ）に直結し、透過光の強度を光電池の短絡電流（ μA ）として測定する。



図 2・2 装置の全体写真

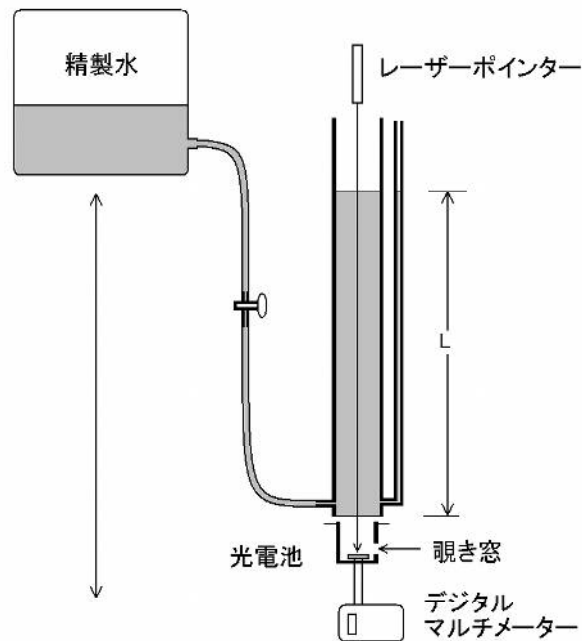


図 2・3 装置の概略図

2・4・2 装置の安定性の検討

実際の測定に先立ち、本装置の光源と受光部の安定性を検討した。赤色レーザーポインターを装置に取り付け、パイプは空の状態です 30 分間照射させ、光電池の短絡電流の変化を測定した。次に緑色レーザーポインターについても同様の操作を行い測定を行った。結果を図 2・4 に示す。赤色レーザー光では照射開始から若干の電流値の低下がみられたが、ほぼ安定した結果が得られた。緑色レーザー光では、発熱による光強度の低下が著しく、10 分後には電流値は半減した。これを改善するため、小型の扇風機（ファンの直径 70 mm、単 4 形電池 2 個使用、100 円ショップにて購入）をスタンドで固定し、レーザーポインターの真横から約 20 cm 離して風を送り、冷却させることとした。これによって電流値の安定が得られた（図 2・4）。しかし 30 分の照射時間の中で赤色光、緑色光それぞれ $8 \mu\text{A}$ と $2 \mu\text{A}$ の低下がみられるため、本実験では水位を上昇しながらの測定と下降しながらの測定を交互に行い、平均値を出すことで光源に由来する電流値の低下を補正することとした。

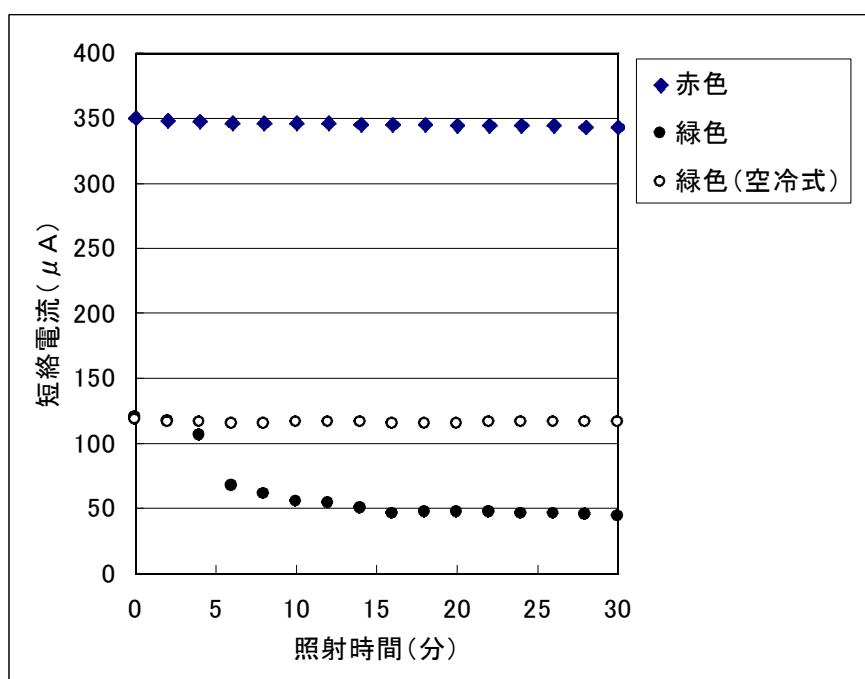


図 2・4 照射時間と光電池の短絡電流値の関係

2・4・3 受光部の温度特性

一般に光電池の短絡電流値は温度に依存することが知られている。そこで使用する光電池の温度特性を実測し、本実験への影響を考えることとした。

光電池に 30.0 lx の光 (タングステン電球 40 W) を照射し、ドライヤーで温風を当てながら、温度と光電池の短絡電流の関係を測定した。結果を図 2・5 に示す。1 °C の上昇に対し 0.95 μA の上昇がみられる。実験の際に急激な室温変化がみられる場合には補正が必要となるが、教室での生徒実験を想定する場合、通常は補正の必要はないと考える。

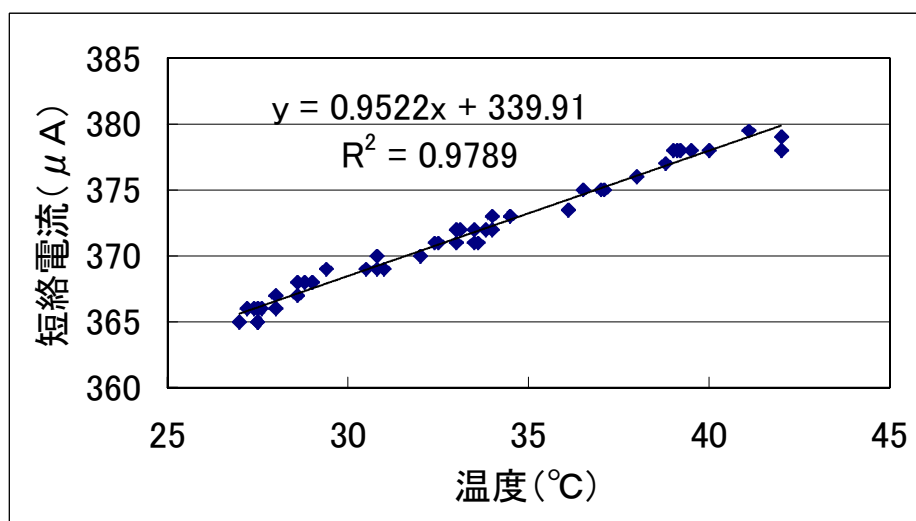


図 2・5 温度と光電池の短絡電流の関係

(at 30.0 lux, 光源:タンクステン電球 40 W, 測定機器:デジタル照度計 LM 科学共栄社製

ポケット DMM AD-5527 エーアントデイ)

2・5 実験方法

最初、精製水のタンクを装置よりも高い位置に置き、コックを開いて、装置内に水を入れ、水位が 10 cm になったところでコックを閉じる。レーザーポインターを点灯させて光電池の電流値が安定するのを待ち、測定値を記録する。次にコックを開いて水位を上げながら 5 cm ずつ光路長を長くし、その都度、電流値を測定する。光路長 100 cm の測定が終わったところでタンクを床の上に置き、今度は水位を 5 cm ずつ下げながら測定を繰り返す。上げ下げ 2 往復、合計 4 回の測定値を得る。

2・6 結果と考察

2・6・1 吸光係数の算出

赤色レーザー光及び緑色レーザー光の測定結果を表 2・2, 表 2・3 にそれぞれまとめた。

①③は水位を上げながら測定したもの、②④は水位を下げながら測定したものである。

光路長 (cm) と光電池の短絡電流 (μA) の関係を図 2・6 に示す。赤色レーザー光が緑色より高い値をとっているが、これは光電池の感度のピークが 800 ~ 900 nm にあるためと考えられる。ヒトの視感度のピークは 500 ~ 600 nm にあり、見た目の明るさは緑色のレーザー光のほうが格段に明るく感じる。曲線の傾きの差から、赤色光の方が水に吸収されやすいことが読みとれる。

次に吸光係数を求めるため光路長 l_i と $\ln(A_{i+1} - A_i)$ の関係を図 2・7 に示した。傾きより $\varepsilon = 3.5 \times 10^3$ が得られる (図 2・1 中の○印)。この値は E.O.Hulburt (1945) が求めた蒸留水における 670 nm の値ともよく一致している。緑色光に関しては図 2・6 に示すとおり減衰が極めて小さいため、減衰率を求めることはできなかった。光路長をさらに伸ばすことで吸光係数の測定は可能となろうが、装置の大型化によって使用水量が増加すること、その重量に耐えるだけの強度の確保が必要になること、設置する教室の高さに制限されることを考え、実験教材としての簡便性と操作性から今回は割愛した。この点は今後の課題である。

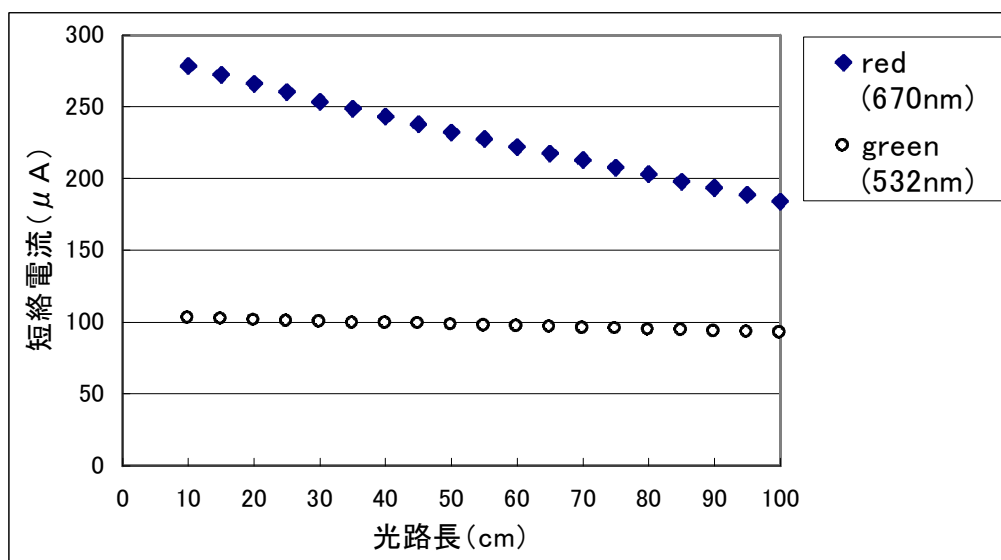


図 2・6 光路長と透過光強度の関係

表 2・2 赤色レーザー(670 nm)の
透過光強度

光路長 (cm)	短絡電流 A (μ A)					ln(A _{i+1} - A _i)
	①	②	③	④	平均	
100	190	190	179	177	184.0	1.558
95	196	193	185	181	188.8	1.558
90	202	198	189	185	193.5	1.447
85	207	202	194	188	197.8	1.609
80	212	207	199	193	202.8	1.609
75	218	212	204	197	207.8	1.609
70	223	218	210	200	212.8	1.558
65	228	222	215	205	217.5	1.504
60	234	227	219	208	222.0	1.658
55	240	232	224	213	227.3	1.609
50	247	237	228	217	232.3	1.658
45	252	242	233	223	237.5	1.609
40	258	248	239	227	243.0	1.705
35	264	254	245	231	248.5	1.705
30	270	259	249	235	253.3	1.558
25	275	265	261	240	260.3	1.946
20	280	271	268	246	266.3	1.792
15	286	278	274	252	272.5	1.833
10	290	284	282	257	278.3	

表 2・3 緑色レーザー(532 nm)の
透過光強度

光路長 (cm)	短絡電流 A (μ A)					ln(A _{i+1} - A _i)
	①	②	③	④	平均	
100	95	95	90	90	92.5	
95	95	95	91	90	92.8	
90	96	95	91	90	93.0	
85	97	96	92	91	94.0	
80	98	96	92	92	94.5	
75	99	97	93	92	95.3	
70	100	97	93	92	95.5	
65	101	98	94	93	96.5	
60	102	98	94	93	96.8	
55	103	98	95	93	97.3	
50	104	99	96	93	98.0	
45	105	99	96	94	98.5	
40	106	100	97	94	99.3	
35	106	100	97	94	99.3	
30	107	100	98	95	100.0	
25	108	100	98	95	100.3	
20	110	100	99	96	101.3	
15	111	101	100	96	102.0	
10	113	100	100	97	102.5	

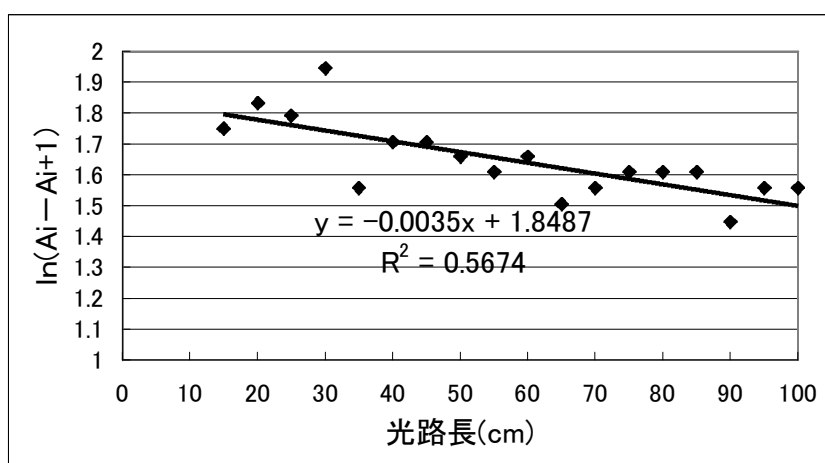


図 2・7 光路長と ln(A_i - A_{i+1}) の関係

$$\text{傾き} = -\varepsilon \quad (\varepsilon : \text{吸光係数})$$

2・6・2 本装置の教材化

以上より、レーザー光を用いることで、簡便な装置ですみ、調整にも長い時間を要せず、精度の高い測定値を得られることが確かめられた。特に操作上困難な点はないため、生徒実験としても活用が期待される。この場合、以下の2点について、最低1時間の事前学習が必要と思われる。

①装置の原理と測定値の処理方法についての説明

②装置の基本操作の練習

本装置による実験は、Lambert-Beerの法則に基づく水の吸光特性を学習するため開発したものであるが、その内容から化学Ⅱでの「色素と染料」の学習項目でも本教材を展開することが可能である。表2・4に授業展開例を示す。この授業は本単元の3,4時間目に位置し、物質の呈する色が吸収される光の色と補色の関係にあることを実験を通して理解することを学習目標とした。3時間目の導入では最初に1,2時間で学習した内容を確認し、次に水は何色であるかを発問する。予想される「無色」の解答に対して、海やプールに潜ったときの水の色など、身近な例から水はわずかながら青色を呈していることに気づかせる。そのうえで、本時と次時での実験の目標を明らかにし、実験の結果を予想させる。展開では、実験装置の原理を説明し、得られた測定値の処理の方法を理解させる。次に実験方法の説明に入る。3時間目の実験は光源、受光部の設置やコックによる水位の調整など一連の操作を練習させて終了とする。4時間目では導入で本時の目標を再確認させた上で、展開に入り、実験を開始させる。赤色光、緑色光についてそれぞれ、水位を上昇させながらと下降させながらの測定を2回ずつ合計4回行い、2色の測定値の平均値をグラフにする。水位は10 cmから100 cmまでの10 cm間隔とする。Lambert-Beerの法則の説明と吸光係数の算出法の説明については実施クラスの習熟度に合わせて必要ならばもう1時間を設定の方が望ましい。時間が限られている場合でも赤色光と緑色光のグラフの傾きを比較させるだけでも吸光度に関する基本的イメージづくりはできるものと期待する。

表 2・4 授業展開例

単元：色素と染料 1 時間目：光と色の関係，物質の色について 2 時間目：色素と染料 3 時間目：水の光吸収実験Ⅰ（本授業） 装置の原理と基本操作，測定値の処理方法 4 時間目：水の光吸収実験Ⅱ（本授業）		
学習目標	水中での光吸収の程度が赤色光と緑色光で異なることを実験によって明らかにし，物質が色を呈するのは，その物質が特定波長の可視光を吸収する結果，吸収波長の色の補色はその物質の色として知覚されるものであることを学習する。	
3 時間目：水の光吸収実験Ⅰ		
	学習活動	指導上の留意点
導入	学習の目標を知る 実験の予想を立てる	<ul style="list-style-type: none"> ・実験プリントの配布 ・水が青色であることを想起させ，本単元の内容に沿ってその原因を考えさせる
展開	①実験装置の原理の説明 ②測定値の処理方法の説明 ②実験方法の説明 ③装置の操作方法の練習	<ul style="list-style-type: none"> ・生徒の理解度に合わせた説明をおこなう ・装置の操作は演示しながら説明する ・実験を支援する レーザーポインターと光電池の固定がしっかりできていることを確認させる
まとめ	気づいたことをプリントに記入する 後片付けをする	装置の問題点や改善点を意識させる
4 時間目：水の光吸収実験Ⅱ		
導入	学習目標の確認と前回の内容の復習	質問によって生徒の理解を確認する
展開	①赤色光の透過光強度の測定 ②緑色光の透過光強度の測定 ④結果の整理 ・各水位における平均測定値の算出 ⑤グラフの作成 ・赤色光と緑色光の測定結果を1つのグラフにする	<ul style="list-style-type: none"> ・実験を支援する ・測定値は値が安定してから読みとらせる ・グラフを作成することで測定値の比較が容易になることに気づかせる ・グラフの傾きと散乱強度の関係について確認させる
まとめ	実験の考察をプリントにまとめる 後片付けをする	後日，レポートとして提出することを知らせる

2.7 教材の発展

水は青色の液体であるという結論は、水が無色透明と考えている生徒には意外性がある。コップ1杯では無色に見えても、プールの水や海に潜って周囲を見ると青色に見えるなど、身近な例を多く挙げながら授業の導入とすれば生徒の興味・関心をひくものとする。生物においては、光合成色素において吸収波長と補色の関係についての学習があるが、そのときに、海藻の光合成色素と水の赤色光吸収の関係について触れるのもよい。アオサに代表される緑藻類は赤色光を吸収するクロロフィル a と b をもつため緑色をしているが、このため赤色光の届かない深いところでの生息はできない。一方、深いところで生息する紅藻類は赤色のフィコエリスリンを多く含んでいる。この色素は緑色の光をよく吸収するため、補色として赤色になっているのであるが、この特性ゆえに海中深くまで達する緑色の光を光合成エネルギーとして活用することができる²⁸⁾。生物 I では、光合成色素のクロマトグラフィーによる分離が実験としてよくとりあげられるが、海藻の光合成色素抽出とこの実験を組み合わせることで、光環境に対する生物の適応へと内容を発展させることも可能である。

この実験のためには光源の高い指向性が求められた。最初、タングステン電球から凸レンズで平行光線を得ることも試みたが、調整が難しく、ときに良い結果が得られても再現性に難があった。その点、レーザーポインターは扱いやすく、装置の組み立てに時間をとらないことや安定して良好な結果が得られるなど、光学実験における光源として非常に有用であると言える。問題は価格であったが、赤色はすでに安価なものが普及しており、緑色についても手頃な価格になりつつある。青色光も価格は高いが市販されており現時点で実験は可能である。レーザー光源の種類が増えることで実験の幅が広がることが期待される。

今回は水がなぜ青色を示すのかを実験テーマにとりあげ、そこから透明物質が色を呈する原理について考え、理解に至る実験教材を目指した。また、実験の実践とデータの処理のなかで Lambert-Beer の法則が学習できることをねらいとした。身近な水を対象とした今回の実験を始まりとしてインクの色など色々な例を挙げながら、光の吸収と補色の関係についてさらに理解を深める総合的な教材づくりへ発展させたいと考えている。

第3章 レーザー光を用いた自作装置による環境水の濁度測定

3.1 環境学習を支援する教材開発

河川や湖沼、沿海などの水質調査は学校における環境教育の実践例としてよく取り上げられる。測定方法の簡便さからパックテストが pH, COD, 窒素化合物濃度, リン酸イオン濃度などの測定によく用いられているが, コストがかかること, 使用済みのチューブはゴミとなること, 測定時間を厳守しないと誤差が大きくなりまとまった結果が得られにくい問題点がある。また, 前述の測定項目についても生徒にとっては馴染みがないため, 測定値の高低がそのまま環境水の汚染度を実感として結びつきにくい点も留意されるべきである。我々が一般に環境水が汚れていると感じるのは濁っている場合であり, きれいだと感じるのは澄み切っている(透明な)場合であろう。実際には濁りを構成している物質は様々であり, 濁っている水が必ずしも生態系に悪影響を及ぼすものとは限らないが, 環境学習の出発点としてはこの濁りから入ってゆくことが適当と思われる。濁り具合を測定する簡易法としてはメスシリンダーなどを利用した透視度の測定法がいくつかの環境測定の指導書に紹介されている^{29) 30) 31)}。しかし, 実際にこの方法で測定してみると, 比較的透明な河川や海水の微小な濁りの変化は測定できないことがわかった。一方, 少量の濁りでも測定できる市販の濁度計は高価であるため学校での購入は難しい。そこで今回は安価な素材を用いた濁度計の自作を試みた。自作の濁度計としては, 光源に LED, 受光部に光電池を用いた装置が報告されている³²⁾が, これは試験管中の試料液の濁度を測定するもので低い濁度の環境水には適用できない。今回は, 光源には指向性の高いレーザー光を用い, 光路長を長くすることで低濁度の試料水に適応できるものとした。濁度の構成物質は放置すると沈殿が進んだり, あるいは粒子が会合して濁りが変化する³³⁾。そのため, 正確な値を得るには現場での測定が必要とされる。濁度計の製作にあたってはこの点を踏まえ, 測定箇所直接投げ込み, その場で測定できる方式のものとした。

次にこの装置を用いて実際に海水の濁度を測定し, 環境水の濁度測定に対応できるものであるかどうかを検討した。海の干満によって河川水の影響が海水濁度に現れることが期待できる河口域を測定地点に選んだ。海水と河川水の混合の変化が濁度を通してわかるとすれば沿岸環境について調べるよい教材になると考える。

3・2 自作濁度計の構造

装置の概略図を図 3・1 に示す。本体はポリ塩化ビニル製下水管（外径 55 mm，長さ 300 mm）を用い，上端部に光源として赤色レーザーダイオード(kyohritsu 650 nm SRLM-N2) と，反射光の検出器としてアモルファスシリコンー光電池 (kyoucera 20 mm × 20 mm) を固定した (図 3・3)。下端部には反射用の鏡をステンレス製ビス (2 mm × 40 mm) 4 本にナットで固定し，反射光が光電池を照射するようナットの位置で調整した (図 3・4)。光源から受光部までの光路長は 540 mm である。本体側部は試料水が自由に出入りできるよう直径 20 mm 程度の穴を 10 数個空け，外部光の侵入を防ぐため下水用塩ビ管（外径 79 mm，長さ 250 mm）で覆った。本体は外部からの迷光防止のため，黒色に塗装を施した (図 3・2)。防水のためレーザーダイオードはガラス管に封入し，光電池表面，リード線の接続部分はすべて 2 液混合接着剤（無色透明，耐水性）で覆った。

赤色レーザーダイオードの電源にはアルカリ乾電池 2 個直列 × 3 並列の 6 個を使用し，電圧の安定を図った。光電池はデジタルマルチメーター (カスタム CDM - 33) に接続し，反射光の強さを光電池の起電力 (mV) として測定する。濁度計本体は環境水中に投げ込むため，リード線は約 10 m の長さとし，リールに巻き付けて携帯しやすくした。

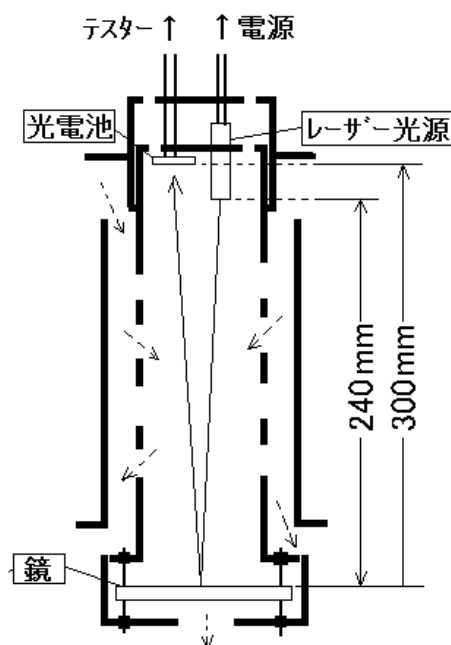


図 3・1 濁度計概略図

レーザー光の進路：実線矢印，水の流れ：点線矢印



図 3・2 濁度計全形

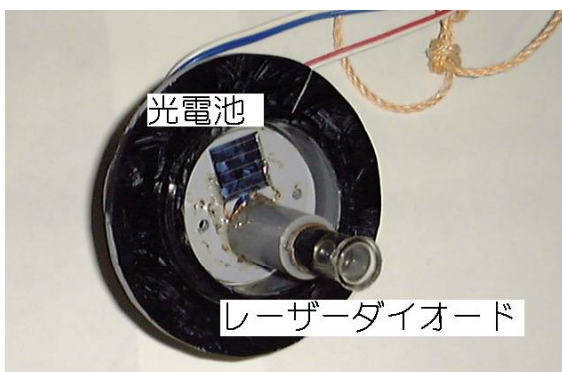


図 3・3 上端部 (光源と受光部)



図 3・4 下端部 (反射鏡)

3.3 測定原理

自作濁度計に使用した光電池の入射光量 I (lux) と起電力 V (mV) の関係を図 3.5 に示す。(測定機器 I : デジタル照度計 LM 科学共栄社製, V : ポケット DMM AD-5527 エーアンドディ)

ここで横軸に V , 縦軸に $\ln I$ をとったグラフ (図 3.6) を描くと 100 ~ 300 mV の範囲においては直線関係が得られる。

よって, この範囲においては, $\ln I$ と V の間には次の関係式が成り立つ。

$$\ln I = aV + b \quad \dots \dots (1)$$

懸濁液において粒子濃度が小さく, 二次散乱が起こらない場合には透過光と濁度との間には Lambert-Beer の法則が成り立つと考えられる。よって, 吸光度を A , 濃度を C とすると

$$A = kC = \log \frac{I_0}{I} = \alpha \ln \frac{I_0}{I} \quad \dots \dots (2)$$

ただし, k , α は定数, I_0 は入射光の強さ, I は透過光の強さとする。

(2)式は(1)式より次のように変形できる。

$$V = -\frac{k}{\alpha a} C + V_0 \quad \dots \dots (3)$$

ただし, $I = I_0$ のとき, $V = V_0$ とする。

(3)式より濁度 C と光電池起電力 V の間には直線的な関係が成り立つことがわかる。

ここで, 濁度を段階的に変えた溶液 (測定用標準溶液) をつくり, それぞれの起電力を測定することで検量線が作成できる。試料水の濁度はこの検量線に当てはめることで求められる。

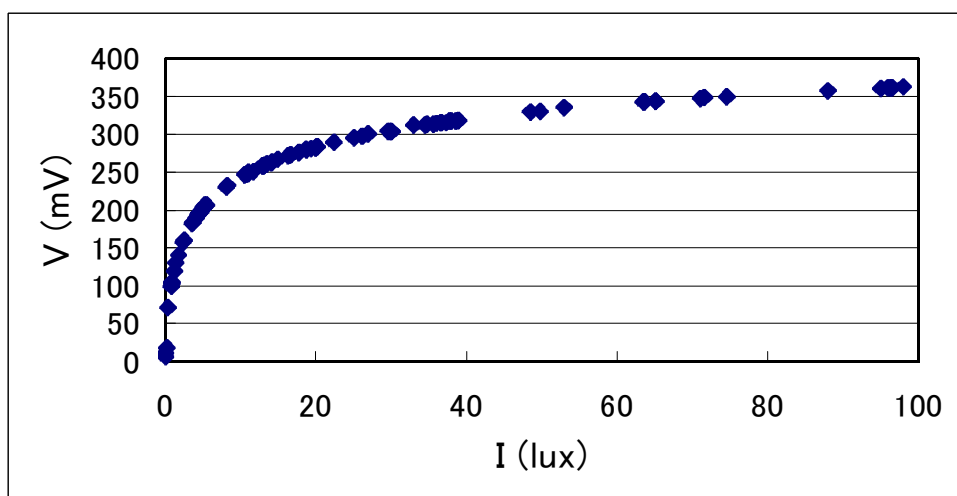


図 3・5 入射光量 I と光電池の起電力 V の関係

(光源：豆電球 2.5 V a-Si 光電池)

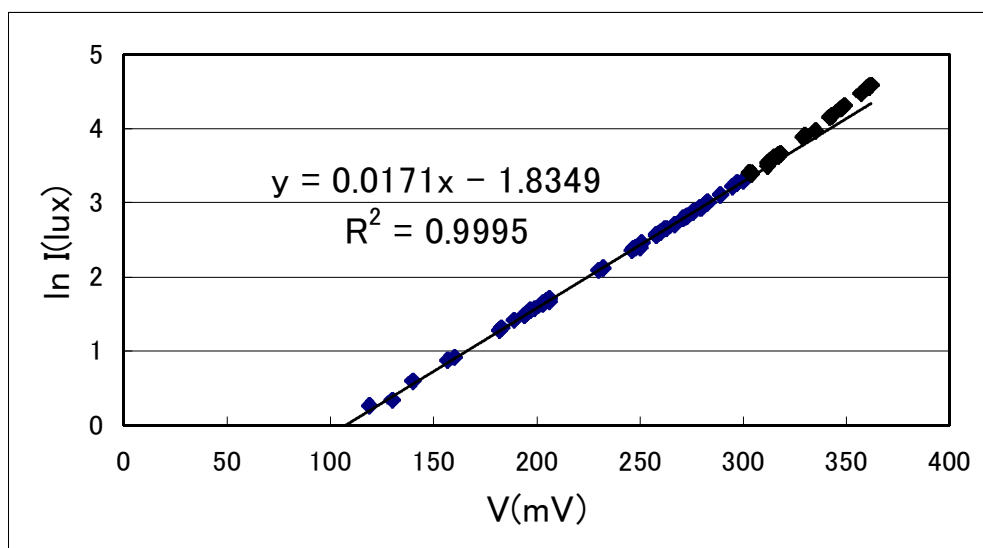


図 3・6 光電池起電力 V と入射光量 $\ln I$ の関係

(近似直線は 100 ～ 300 mV の値を使用)

3・4 検量線の作成

3・4・1 標準液

濁度の標準液として日本工業規格 (JIS K0101)ではカオリン標準液を用いている。

- ① 濁度用カオリン (和光純薬 化学用) 10 g を 500 cm³のビーカーにとり, 水 300 cm³ ,

ピロリン酸ナトリウム 0.20 g を加え、3 分間激しくかき混ぜる。これを 1 dm³ の共せんメ
スシリンダーに移し水を加えて全量を 1 dm³ とし、よく振り混ぜる。常温で 1 時間静置し
た後、サイホンを用いて表面から 250 cm³ までの液を捨て、その下 500 cm³ の液を蒸発皿
に取る。水浴上で蒸発乾固したのち、105 ~ 110 °C で 3 時間乾燥し、放冷後メノウ鉢を用
いて微粉碎し、濁度用カオリンとして広口びんに貯える³⁴⁾。

② 濁度標準液：濁度用カオリン 1.000 g を 1 dm³ のメスフラスコにとり、ホルマリン 10
cm³ を加え、水で全量を 1 dm³ とする。これを原液（濁度 1000 度）として、水で希釈して
使用する³⁴⁾。

3・4・2 測定方法

ホールピペット洗浄器（ポリ塩化ビニル製水槽 内径 155 mm 高さ 550 mm）に 8000
cm³ の水を入れ、この中に本濁度計を完全に入れる。点灯して値が安定したところで光電
池の起電力を読みとり、この値を濁度 0 の値とする。続いて、この水に濁度 1000 度のカ
オリン標準液を 10 cm³ 添加しよく攪拌した後、起電力を読みとる（濁度 1.25 度）。この
作業を繰り返し濁度 10.00 度までの値を得る。

濁度と光電池起電力の関係を図 3・7 に示す。測定値を直線に近似させたところ高い相関
係数が得られ、検量線として使用できることが確認された。

ただし、調査日ごとに光源電圧は若干変化するため、検量線は調査の直前に作成する必
要がある。

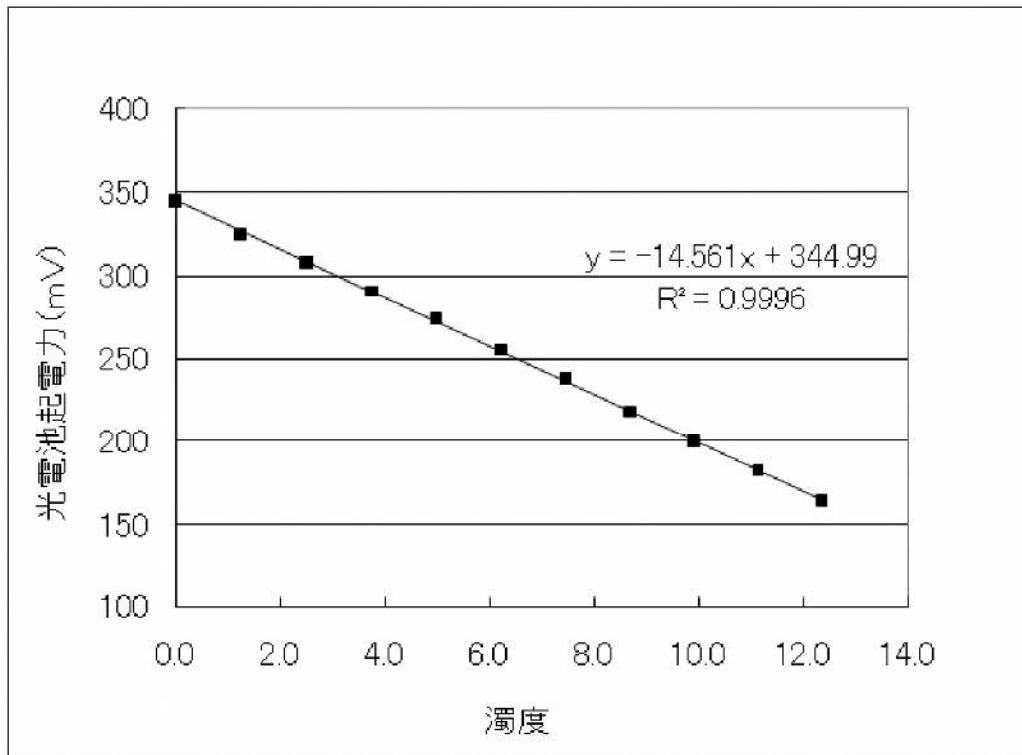


図 3・7 濁度と光電池起電力の関係

3・5 河口流域の濁度調査

3・5・1 海水の濁度成分

海水の濁りの構成物質は①植物プランクトン、②その他の有機懸濁物（生物の分解細片など）③無機懸濁物（土砂など）④溶存有機物（黄色物質）が考えられる³⁵⁾。これら濁度構成物質の光学的性質を図 3・8 に示す。

大雨や台風後の河川の濁水が大量に流入すると、土砂が濁度の主成分となり、赤潮時には植物プランクトンが濁りの主成分となる。このように時と場所によって濁度の構成物質は濃度だけではなく組成も大きく変わる。

濁度計で測定する場合、光源の波長によって捕捉する構成物質の組成は異なることが指摘されている。青色光あるいは白色光を用いた場合は濁度に関わるすべての構成物質が対象となるが、赤色光の場合は、主に無機懸濁物質と植物プランクトンが測定対象となる³⁵⁾。

作製した濁度計は光源に 650 nm の赤色レーザー光を使用しているため、上記の点を考

慮し、測定された濁度とその海水の濁度構成物質（総懸濁物質、無機懸濁物質）の関係を調べることにした。

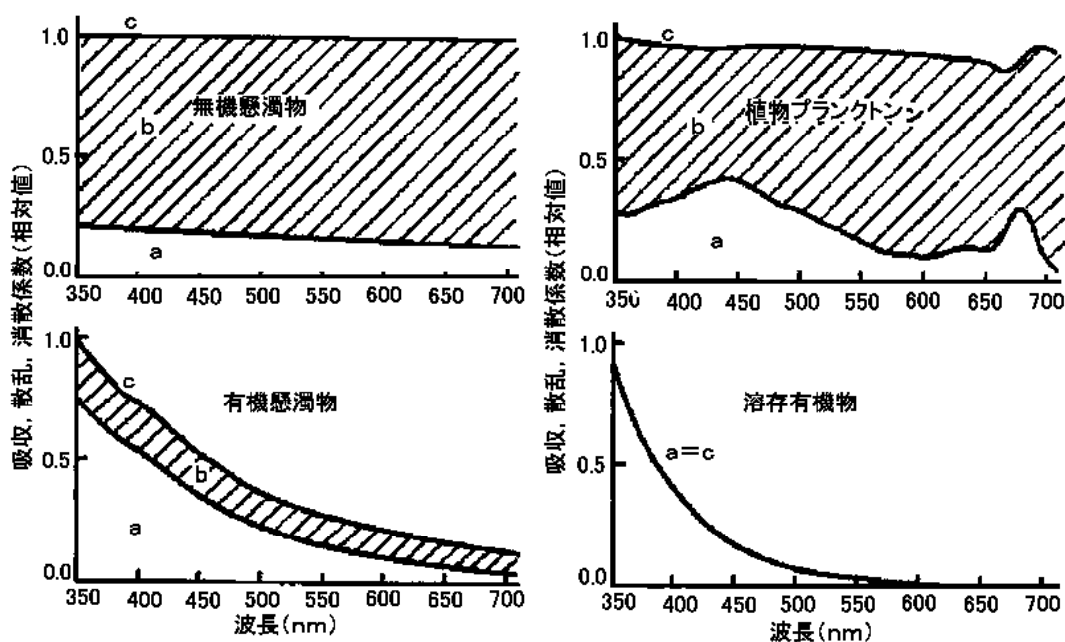


図 3-8 濁度構成物質の光学的性質（竹内 他, 1979）

a : 吸収係数(白抜き) b : 散乱係数(斜線) c : 消散係数 (= a + b)

3-5-2 調査計画

測定地には明石川河口東岸にあたる岬町埠頭を選んだ（図 3-9）。当地は河口より 370 m の地点で潮の干満にあわせて海水が明石川の影響を受けることが予想され、時間と共に濁度の変化が期待される。また、濁度計を海面に降ろすにあたって妨害物もなく、干潮時でも水深 2 m 程度が確保されるという利点がある。

測定は平成 12 年 10 月 6 日、午前 6:30 から 90 分間隔で行い、17:00 で終了した。この日は小潮で、干潮から満潮にかけての測定となった（図 3-11）。

事前の 3 日間は晴れが続き、雨水による河川からの極端な濁水の影響はないと考えられる。



図 3・9 測定地点

自作装置による濁度測定だけでなく、河口域における海水への河川水の影響を調べるため、以下の 6 項目を測定した。

- | | |
|--------------------|-----------------|
| ① 気温 | ② 水温 |
| ③ 塩分 (NaCl 換算 %) | ④ pH |
| ⑤ 濁度 | ⑥ 総懸濁物量, 無機懸濁物量 |

各項目の測定方法

②③④⑤の項目は海水面から 0 m, 1 m, 2 m の各水深について測定を行った。②③④⑥は採水器で海水をくみ取り測定した。

①：地表から 1.5 m 離し直射日光を避け、デジタル温度計 (SATO SK-1250MC II) で測定。

②：採水後、直ちにデジタル温度計 (SATO SK-1250MC II) で測定。

③：採水した海水を脱イオン水で 10 倍に希釈し、コンパクト導電率計 (HORIBA TWIN COND B-173) で測定。

- ④：採水した海水をコンパクト pH メーター (HORIBA TWINpH B-212) で測定。
- ⑤：各水深において濁度計を 2 ～ 3 回上下に揺すり、本体内部の水を完全に測定点のものに入れ替えた後、光電池の起電力の安定するのを待って値を読みとる。各水深 2 回ずつ測定し平均値を求める。
- ⑥：総懸濁物量：採水した海水を持ち帰り、1 dm³ を定量ろ紙 (ADVANTEC 5 C 185 mm) で吸引ろ過する。ろ紙は事前に 70 °C で乾燥させ、恒量値 (A) を得ておく。ろ過したあと、再び 70 °C で乾燥し恒量値 (B) を得る。(B) - (A) をもって懸濁物量 (mg/L) とする。
- 無機懸濁物量：懸濁物量を測定したろ紙をあらかじめ恒量値 (C) を得たるつぼに入れ、ブレンダーでろ紙が灰化するまで加熱する。デシケーターで 30 分放置後、秤量する。2,3 回繰り返して恒量 (D) を得る。(D) - (C) - 0.3 mg (ろ紙灰分) をもって無機懸濁物量 (mg/L) とする。

3・5・3 結果および考察

本濁度計の測定範囲は濁度 0 ～ 12 程度で、光電池の起電力 1 mV が濁度 0.05 に相当する。今回の測定結果より各水深における 2 回の測定値の差は 0 ～ 1 mV であり、本濁度計の再現性は高い。今回の調査対象となった海水の濁度は 0 ～ 2.5 の微小な変動であったが、本濁度計の精度で十分に測定できることが示された (図 3・15)。

光電池の起電力は温度上昇とともにほぼ直線的に低減する特性をもつ。受光部に用いた a-Si 光電池起電力の温度特性を図 3・10 に示す。この図より起電力の低減率は -2.01 mV/°C となり、濁度に換算すると 1 °C 当たり 0.138 度の上昇となる。今回の調査では水温の最大値と最小値の差が 0.6 °C であり (図 3・12)、濁度変動の傾向に変化を与えるほどではないことから補正は省略したが、環境水の水温変化が大きい場合には上記換算値による温度補正が必要となる。

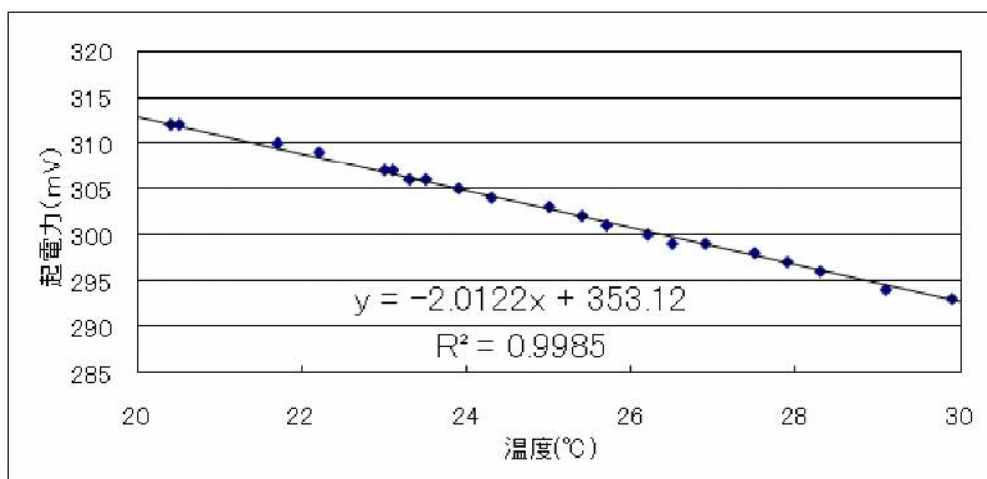


図 3・10 光電池起電力の温度特性

(at 50 lux, 光源：豆電球 2.5V)

(測定機器：デジタル照度計 LM 科学共栄社製, ポケットDMM AD-5527 エーアンドディ)

各測定項目の結果を図 3・12～図 3・15 に示し、そこから読みとれる傾向を以下に記す。
 なお、図 3・11 については「海上保安庁水路部発行書誌 742 号, 1992」からのデータをもとにつくられた潮汐予想ソフト (TIDE for WIN, Version 2.11, Copyright(C) n'soft.1999, フリーウェア) より水位の値を取り出して作成した。

- ①干潮から満潮にかけて pH が増加する傾向が見られる (r = 0.68) (図 3・14)。
- ②干潮から満潮にかけて濁度は低下する (図 3・15)。濁度と水位の相関を図 3・16 に示す。干潮から満潮 (9:30～17:00) にかけては両者の間に負の相関が見られる (r = -0.88)。
- ③塩分と濁度および pH と濁度の間には負の相関が見られる。(それぞれ r = -0.83, -0.72)
- ④水深ごとにみた場合では、水温、塩分、pH において大きな差は見られなかった。濁度については水深が浅いほど大きくなる傾向が見られる。

①の結果は干潮から満潮に向けて測定地の河口域では海水の流入量が増大し河川水の混合比が減少してゆくことを示していると考えられる。

一方、濁度は塩分および pH の増加とともに減少しており、これは濁度を構成する懸濁物の主たる起源が明石川にあることを示唆している。pH の変化量は 7.7～8.1、塩分の変化量は 2.9～3.3 と小さく、今回使用した携帯型 pH メーター (HORIBA TWINpH B-212) と導電率計 (HORIBA TWINCOND B-173) では変化を追跡するのに十分な精度が得られな

かった。より高い精度の測定値を比較することで本自作測定器による濁度とこれらの項目間の関係はより明確となろう。

濁度と総懸濁物量の相関($r = 0.90$)は、濁度と無機懸濁物のもの($r = 0.86$)より高く、本濁度計による濁度は、無機分だけでなくプランクトン、有機懸濁物なども含めた総懸濁物量を反映しているといえる(図 3・17)。これは先の報告³⁵⁾と必ずしも合致しないが、理由としては①有機懸濁物及び溶存有機物が少なかった ②懸濁物量の測定に用いた試料水は採水後、運搬、保存と分析にかかるまでに時間を要し、懸濁物質そのものが変化してしまったことなどが考えられる。これらの検討は今後の課題である。

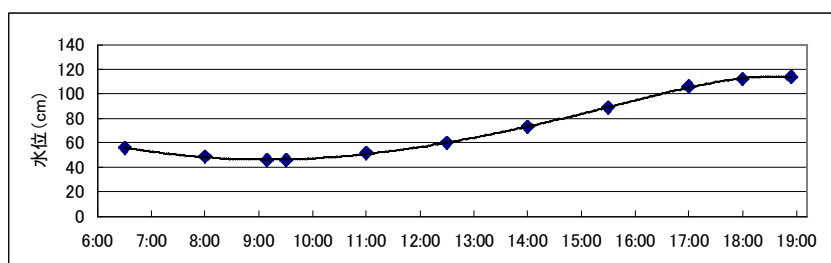


図 3・11 水位 (cm)

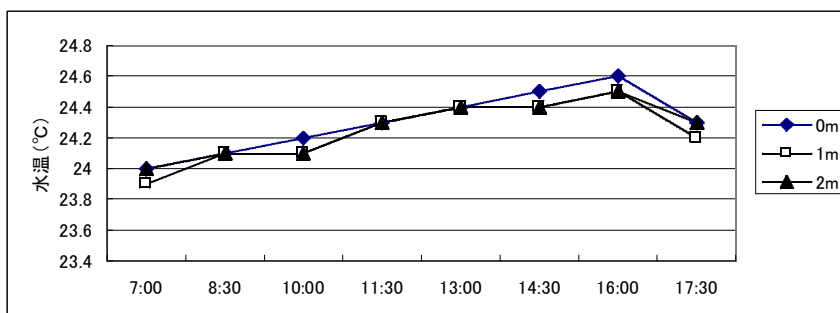


図 3・12 水温 (°C)

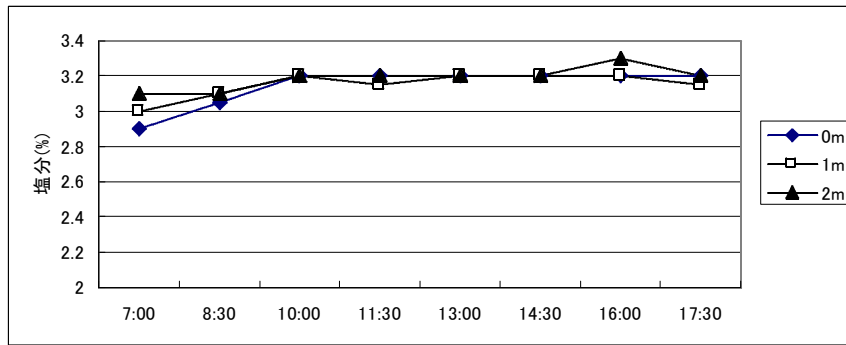


图 3·13 盐分 (%)

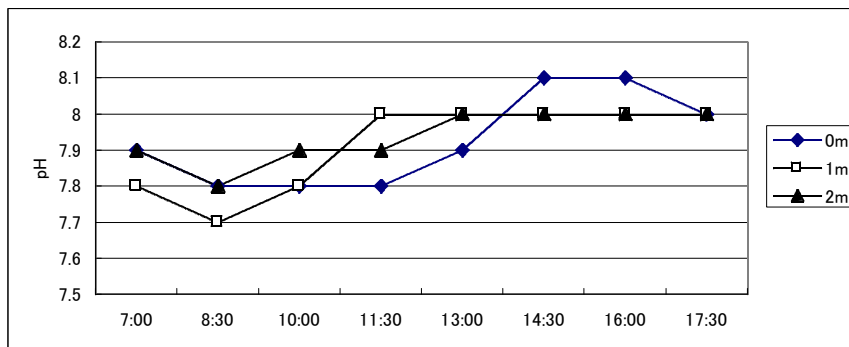


图 3·14 pH

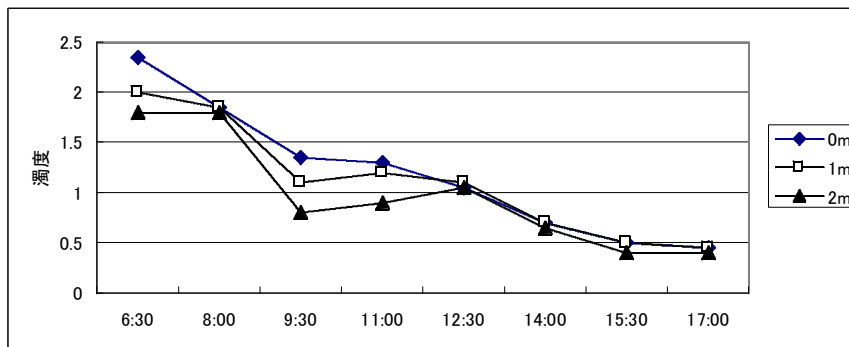


图 3·15 濁度

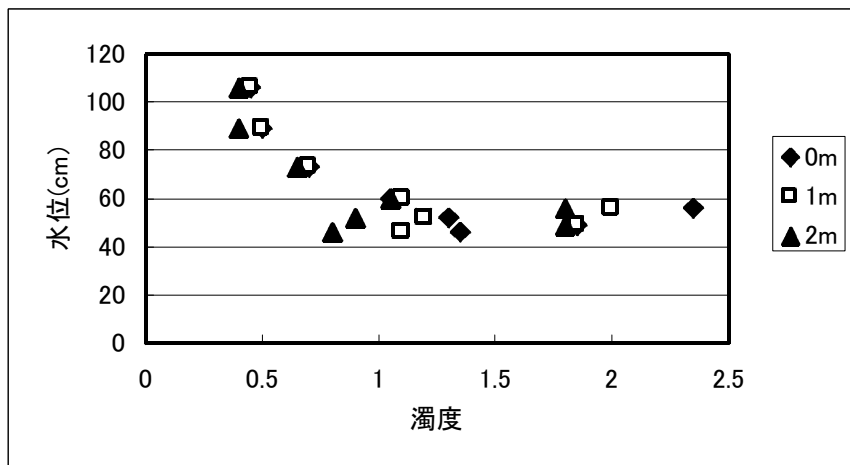


図 3・16 濁度と水位の相関図

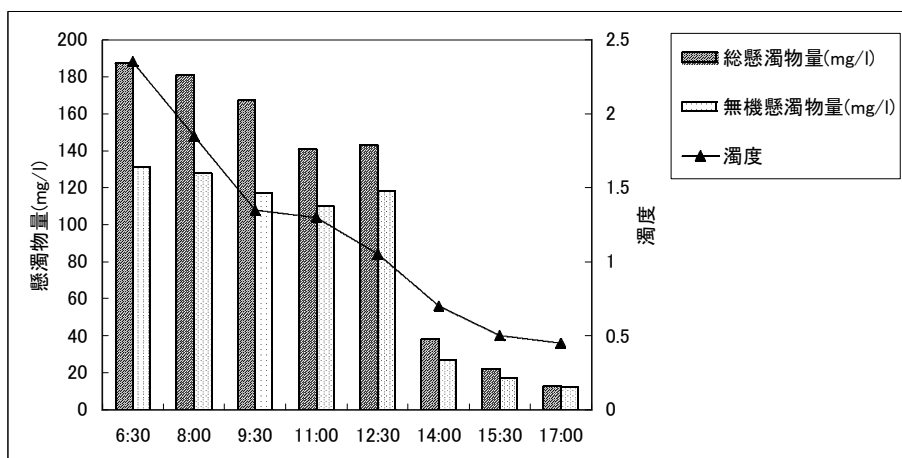


図 3・17 濁度と懸濁物量の関係

3・6 自作教材の意義

今回の自作濁度計では、光源と光電池を除き、部品は安価な汎用品を使用した。近年、レーザーダイオード、光電池などの電子部品も手頃な価格で手に入れることができるようになり、今回の材料費は総額で約 3000 円と低く抑えることができた。

ただし、装置を自作することの意義は単にコストを低く抑えることだけではなく、以下のような学習効果にあると考えている。

生徒が①装置のしくみを理解すること。

②測定の原理を理解すること。

③測定方法や調査の過程に対する興味・関心を高めること。

学校教育における環境学習では調査結果のまとめに力点がおかれることが多いが、調査方法の違いによって結果が異なってくるものの可能性は学習上もっと強調されてよい点である。生徒が装置を自作し、自ら環境測定をおこなうことで①②の理解がすすみ、同時に測定方法自体への興味関心が高まることで測定方法の改善点についてより深い考察がなされることが期待できる。これらのものづくりから始まる一連の学習は「自ら考える力」を育てる過程でもあり、理科のおもしろさを実感することにもつながることと考える。

検量線を用いた測定方法については高等学校以下の教育課程において必ずしも学習される内容ではないが、すでにいくつかの授業実践研究の中で実施されており、小学生でも理解可能であることが報告されている³⁶⁾³⁷⁾。本濁度計の測定原理も対象者の習熟度に応じて学習を進めれば、高校生以下にも充分理解できるものとする。

今回、明石川河口域の濁度変動を本測定装置でとらえることができた。この投げ込み式濁度計の利点は時々刻々と変化する環境水の濁度を測定できること、様々な水深における濁度を連続的にとらえることが可能な点である。濁度と他の測定項目の関係を調べることで、環境の多面的変化をとらえることが可能となる。今後、学校現場を中心とした環境学習の場において幅広い活用が期待できるものと考えている。

第4章 レーザー光を用いた自作屈折計による油脂の分解反応の測定

4・1 教材としてのリパーゼによる油脂の分解反応

消化酵素のはたらきについては、中学校では2年の理科、高等学校では生物や化学の教科書において記述があるものの、実験の紹介については中学校の教科書においてデンプンの唾液による分解反応が共通して掲載されているのみである。吉田³⁸⁾によれば、三大栄養素の1つである油脂を分解するリパーゼのはたらきについて、1980年代の「ゆとり教育」以降、実験に関しては定性的なものを含め掲載されなくなり、児童・生徒は脂肪の消化やその分解生成物を「言葉のみで覚えて」いるといえる。

リパーゼによる油脂の分解に関する教材開発については、吉田らの一連の研究がある^{39,40)41)42)}。これは市販の胃腸消化薬によるオリーブ油の加水分解を、生成するグリセリンの呈色反応から確認するもので中学生を対象に実践報告もなされている。

本研究では油脂の分解で生じたグリセリンを定量するため、簡易屈折計を用いた新たな分析法を考案した。自作屈折計を用いた定量実験の授業への活用としては、武井が市販飲料水中の糖分測定をおこなった例がある⁴³⁾。今回はその装置をグリセリン濃度の定量へ応用した。

リパーゼは種類が多く、位置特異性に関しても種類ごとに異なる特性を持つ。安価で手に入りやすい豚膵臓リパーゼはトリグリセリドの2位には作用せず⁴⁴⁾、モノグリセリドまでの分解である。一方、微生物由来のリパーゼでは位置特異性を持たず、グリセリンまで分解できるものも多い。今回はそのなかでも比較的安価な *C. rugosa* リパーゼ (CRL)⁴⁴⁾ を用いた。オリーブ油を分解した結果は、反応時間とともに脂肪酸とグリセリンが共に増加し、3時間後にはその比は約3:1となった。本装置を用いた教育活動への実践応用として、高等学校の理科部での活動も併せて報告する。

4・2 グリセリンの定量

4・2・1 グリセリン溶液の濃度と屈折率の関係

グリセリン水溶液の屈折率についてはクラウジウス・モソッティの公式より以下の式が導かれる⁴⁵⁾。

$$\frac{n^2 - 1}{n^2 + 2} = (1 - x) \frac{N n_1^2 - 1}{N_1 n_1^2 + 2} + x \frac{N n_2^2 - 1}{N_2 n_2^2 + 2}$$

ただし、 x は水溶液中の全分子数に占めるグリセリン分子数の割合、 n 、 n_1 、 n_2 はグリセリン水溶液、水、グリセリンの屈折率、 N 、 N_1 、 N_2 は単位体積中のグリセリン溶液の分子数、水の分子数、グリセリンの分子数である。

ここで C をグリセリンのモル濃度、 N_A をアボガドロ数とすると $CN_A = xN$ となり、以下の式が導ける。

$$\frac{n^2 - 1}{n^2 + 2} = \frac{N n_1^2 - 1}{N_1 n_1^2 + 2} + \left(\frac{1 n_2^2 - 1}{N_2 n_2^2 + 2} - \frac{1 n_1^2 - 1}{N_1 n_1^2 + 2} \right) CN_A$$

ここで低濃度のグリセリン水溶液を考えると、 n は n_1 近傍での変化となり、左辺にテイラー展開による一次近似式をあてはめると以下の式が成り立つ。

$$\frac{n_2^2 - 1}{n_2^2 + 2} + \frac{6n_1}{(n_1^2 + 3)^2} (n - n_1) = \frac{N n_1^2 - 1}{N_1 n_1^2 + 2} + \left(\frac{1 n_2^2 - 1}{N_2 n_2^2 + 2} - \frac{1 n_1^2 - 1}{N_1 n_1^2 + 2} \right) CN_A$$

$N \approx N_1$ と考えるとグリセリン水溶液のモル濃度 C はグリセリン水溶液の屈折率と直線的関係になることが予想される。図 4・1 に報告されているグリセリン濃度（質量%）と屈折率 n_D （Na の D 線 589.3 nm による屈折率）のデータを示した⁴⁶⁾。これからも直線的な変化を読み取ることができる。

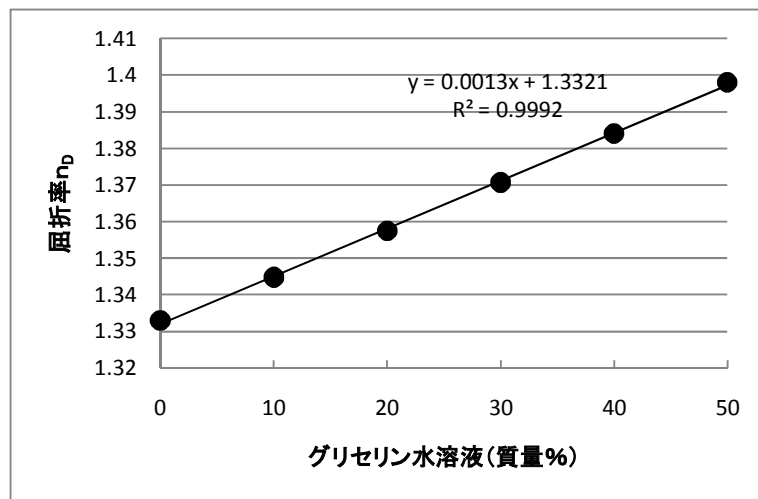


図 4・1 グリセリン水溶液の屈折率 n_D (20°C)

4.2.2 簡易屈折計の原理

図 4.2 に示すように薄いガラス板でできた正三角形のセルがあり、そのなかにグリセリン水溶液を入れ、左からレーザー光を照射する場合を考える。この場合、次の関係式が成り立つ。

$$\frac{\sin \theta_1}{\sin \theta_2} = \frac{n_2}{n_1} \quad \frac{\sin \theta_3}{\sin \theta_4} = \frac{n_1}{n_2} \quad \theta_3 = 60 - \theta_2$$

ただし、 n_1 は空気の屈折率、 n_2 はグリセリン水溶液の屈折率を示す。

この装置ではレーザー光の入射角 θ_1 を固定し、グリセリン溶液の屈折率 n_2 の変化量をスクリーン上のレーザー光の光点の移動距離から測ることを原理とする。

この原理に基づく高校における実験教材としては、本研究で採用した武井の装置の他、静岡工業高等学校⁴⁷⁾の報告がある。前者における入射角 θ_1 の設定は「できるだけ大きくなるような角度」とあり、後者については 30° 、 75° 、 75° の二等辺三角形型のセルを用いて θ_1 は図から 25° と読み取れる。そこで実験をするにあたり適切な θ_1 を求めることとした。

入射角 θ_1 と $\tan \theta_4$ の関係を表計算ソフトで計算した結果を図 4.3 に示す。入射角 θ_1 は小さいと、入射角 θ_1 に対する $\tan \theta_4$ の変化量が大きくなるため、わずかな θ_1 のぶれが大きな誤差につながることを示している。図 4.3 から入射角は 30° 以上の設定が適当であると判断した。図 4.4 は各入射角におけるグリセリン水溶液の屈折率と $\tan \theta_4$ の関係を示したものである。直線性は入射角が小さくなるとわずかに悪くなるが検量線として使用するには差し支えない。傾きは入射角が小さいほうが大きくなるため、図 4.3 の結果も総合して考えると入射角は $30^\circ \sim 40^\circ$ が適当であると判断した。グリセリンのわずかな濃度変化を測定するにはセルからスクリーンまでの距離 L を大きくする必要がある。

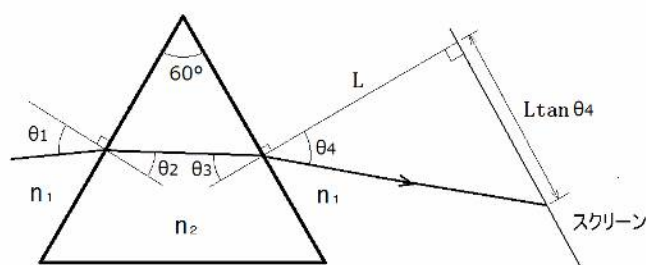


図 4.2 装置の原理

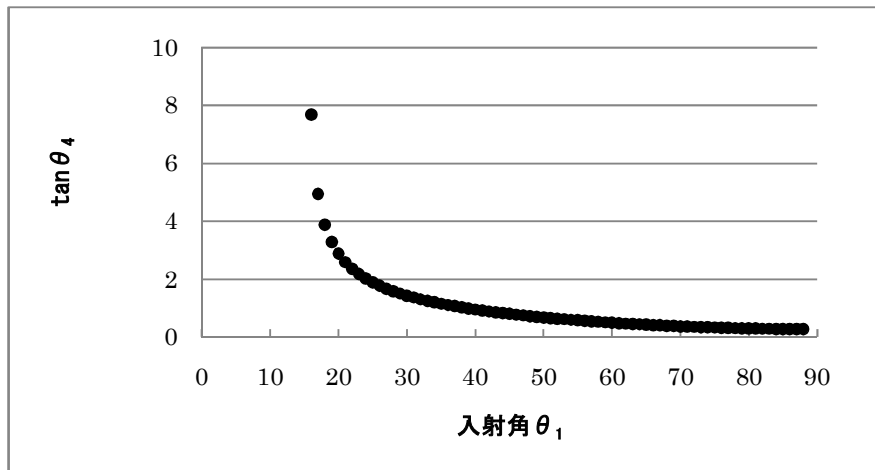


図 4・3 入射角 θ_1 と $\tan \theta_4$ の関係

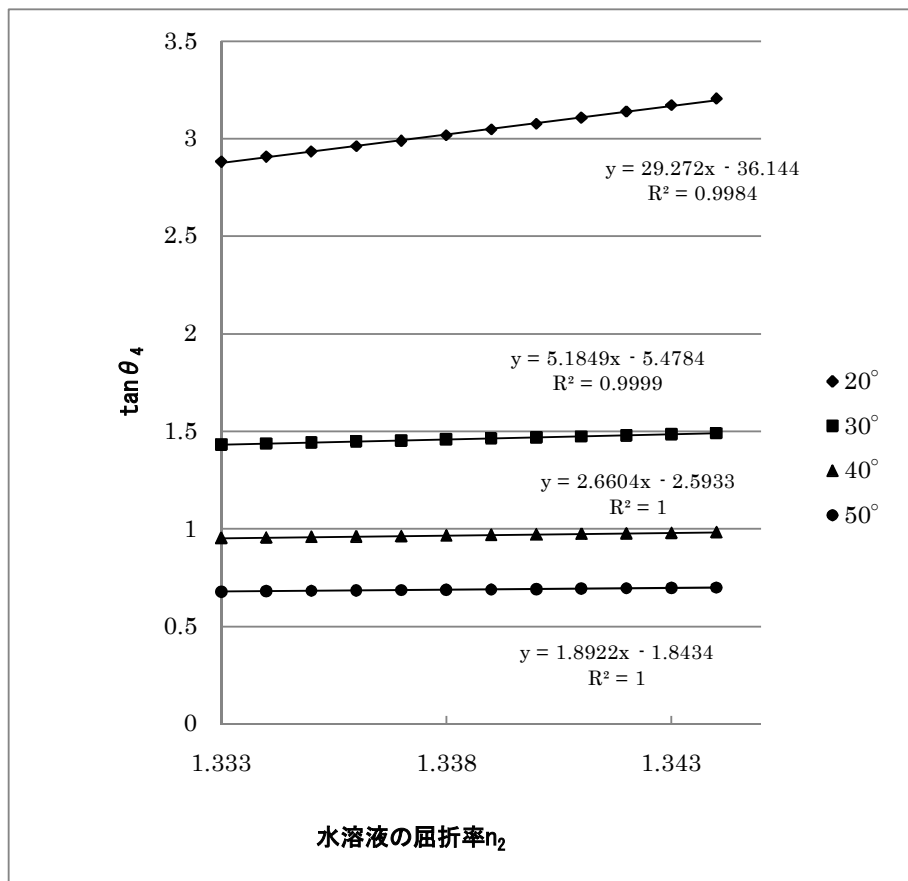


図 4・4 グリセリン水溶液の屈折率 n_2 と $\tan \theta_4$ の関係

(凡例は入射角の角度, 水 : $n_D = 1.333$,

10%グリセリン水溶液 : $n_D = 1.345$)

4・2・3 簡易屈折計の製作

本装置は、溶液量が少量ですむように三角セルの1辺を50 mm から26 mm に変更した以外は武井(2001)の装置と基本設計は同一である。図4・5, 4・6に示すようにスライドガラス(26 mm×75 mm×1 mm)3枚をガラス板の上に防水性の透明接着剤を用いてプリズム状に固定し三角セルを作成する。スライドガラスの1枚に入射角40°になるように青色レーザーポインタ(RAY 405 nm±10 <50 mW)あるいは赤色レーザーポインタ(FujiCorona ML-670 670 nm max1.0 mW)を固定し、この装置を実験室の教卓の上に固定する。レーザー光を投影するスクリーンとして白い上質紙を教室の背後の壁に貼り付ける。教卓から壁までの距離は約10 mである。

レーザー光の光点径はグリセリン濃度に関係なく405 nm(青)では3~4 mmのほぼ円形, 605 nm(赤)で縦3~4 mm, 横7~8 mmの楕円形を示す。この差は使用したレーザーポインタの特性によるものと思われる。光点に幅があるため、あらかじめ光点のどの部分で計測するかは決めておく必要がある。

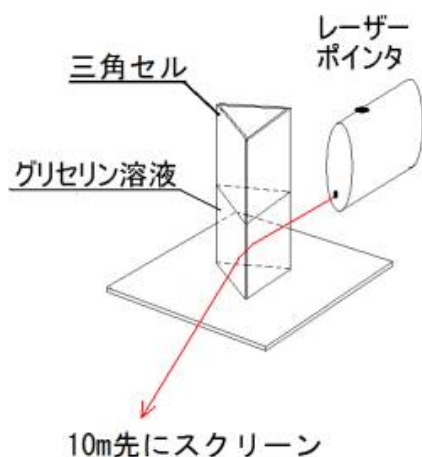


図4・5 簡易屈折計の概略図

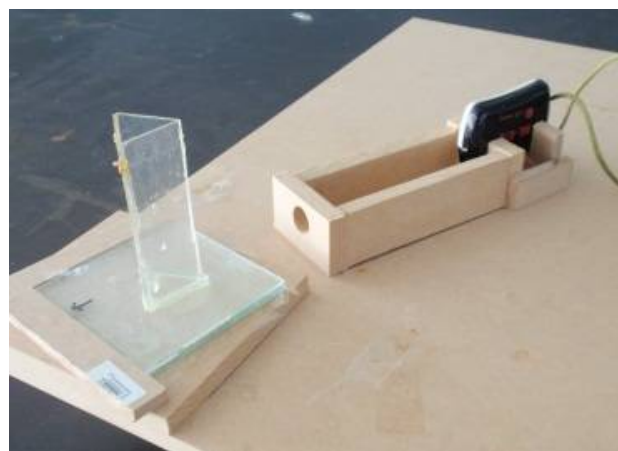


図4・6 簡易屈折計(写真)

4・2・4 グリセリン溶液の検量線

(1) 準備物

リン酸緩衝液(pH 8.0): リン酸水素二ナトリウム Na_2HPO_4 (一級) 14.20 g を水に溶かして1 LとしたものをA液, リン酸二水素カリウム KH_2PO_4 (一級) 13.61 g を水に溶

かして 1 L としたものを B 液として、 $A : B = 9.5 : 0.5$ の割合で混合する。

クエン酸-リン酸緩衝液 (pH 4.0) : クエン酸 (一級) 19.21 g を水に溶かして 1L としたものを C 液, リン酸水素二ナトリウム 28.39 g を水に溶かして 1 L としたものを D 液として、 $C : D = 30.7 : 19.3$ の割合で混合する。

グリセリンは一級を用いた。

(2) 方法

グリセリン 92.0 g をリン酸緩衝液 (pH 8.0) に溶かして 1L とする (1.00 mol/L)。これをリン酸緩衝液 (pH 8.0) で希釈して 0.100, 0.200, 0.300 . . . , 0.900 mol/L の標準溶液を調製する。レーザーポインタを点灯し、まずリン酸緩衝液 (pH 8.0) を三角セルに入れる。スクリーン上のレーザー光の光点の位置に印を付ける。続いてセルの中身を 0.100 mol/L グリセリン溶液に入れ替え、光点の位置に印を付ける。この作業を各標準溶液について繰り返す。リン酸緩衝液の光点の位置を基準点として各標準溶液の光点までの距離を測定しグラフを作成する。

(3) 結果

図 4・7 にレーザー光の波長 405 nm (青) と 605 nm (赤) の結果を示した。原理で予測したとおり、両者共に各点は直線上にあり検量線として使用できることが示される。

また、波長の短いほうが近似直線の傾きは大きくなるが、その差はこの条件下では小さく、グリセリンのわずかな濃度変化を測定するにはスクリーンまでの距離を大きくとることが必要といえる。

溶媒にイオン交換水を用いた場合とリン酸緩衝液あるいはクエン酸-リン酸緩衝液を用いた場合のグリセリンの検量線の傾きを表 4・1 に示した。試料は同条件のものを 3 検体ずつグリセリンを秤量するところから調製した。グリセリン濃度は 0, 0.2, 0.6, 1.0 mol/L である。イオン交換水を溶媒に用いた試料は他の 2 つの緩衝液よりも 1~2%程度、傾きが大きくなる傾向が見られた。

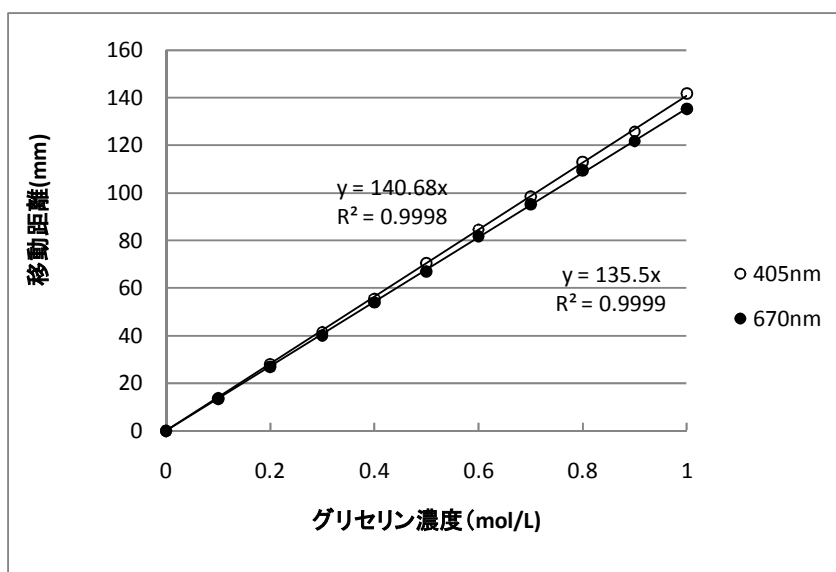


図 4.7 グリセリン溶液濃度と光点の移動距離の関係

表 4.1 溶媒ごとの検量線の傾き

	検量線の傾き [mm/(molL ⁻¹)]	
	測定値	平均
イオン交換水	138.3	137.9 (0.29)
	137.8	
	137.7	
リン酸緩衝液 (pH 8.0)	135.8	135.4 (0.92)
	136.0	
	134.3	
クエン酸-リン酸緩衝 液 (pH 4.0)	133.5	134.3 (0.82)
	134.2	
	135.1	

()内の数値は S.D.

4.2.5 グリセリン定量のための基礎実験

(1) 温度が屈折率に及ぼす影響

本装置の測定値が温度にどの程度依存するかを調べるため、冷却したリン酸緩衝液（pH 8.0）を三角セルに入れ、自然に温度変化させながら光点の移動距離を測定した。結果を図 4.8 に示す。1°C 変化したときの移動距離はグリセリンの 0.012 mol/L に相当する。正確な測定のためには標準溶液と試料溶液は室温下で十分に放置し、すべての溶液の温度を同じにしたのち、短時間で測定を完了することが必要である。

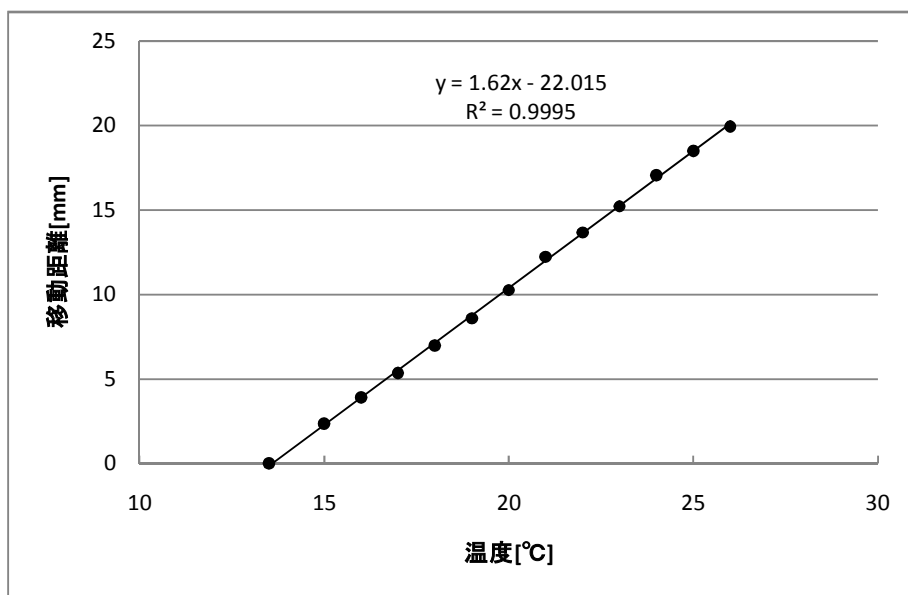


図 4.8 移動距離の温度依存性

(リン酸緩衝液 pH 8.0, $\lambda = 605 \text{ nm}$)

(2) オリーブ油からの水溶性物質の有無

油脂にリパーゼ・リン酸緩衝液を加えて攪拌しながら分解を進める場合、生成したグリセリンは水溶性のためリパーゼ溶液中に溶け込む。グリセリン以外の物質がリパーゼ溶液に溶出しないと仮定すると、リパーゼ溶液を屈折計で測定することでグリセリンの定量は可能となる。そこで、リン酸緩衝液（pH 8.0）とオリーブ油を混和した時に緩衝液に屈折計の測定値に影響を与える物質が溶出しないかどうかを確認する実験を試みた。

実験はリン酸緩衝液（pH 8.0）50 mL にオリーブ油（米山薬品工業）50 mL を加え、ウォーターバスで 38~39 °C に保ちつつ、1 時間ごとに 4 時間後まで試料採取をおこなった。

採取の手順は 50 分間攪拌 (400~500 rpm), 10 分静置しリン酸緩衝液とオリーブ油の 2 層に分離したのち, それぞれの層から 5 mL ずつ採取した。すべての緩衝液試料は十分な時間放置し室温に戻したのち, 屈折計にて測定した。

結果は表 4・2 に示した。1 時間~4 時間の緩衝液試料において顕著な光点の移動は認められなかった。

表 4・2 緩衝液+オリーブ油における屈折計測定値の変動

攪拌時間(hrs)	0.5	1.0	2.0	3.0	4.0
移動距離(mm)	-0.8	0.0	0.4	0.2	0.0

(3) リパーゼ溶液からの溶出物質の有無

CRL (L1754-10G, SIGMA-ALDRICH) 0.50 g を pH 8.0 リン酸緩衝液 250 mL に加えて 20 分程度の攪拌により溶かしたのち, ウォーターバス中で 38~39 °C で攪拌(約 500 rpm) し続け, 3 時間後まで 30 分ごとに 5 mL ずつを採取した。すべての試料が室温になった後, 屈折計にて光点の位置の変化を観察した。基準点は計時前のリパーゼ溶液の光点とした。結果はいずれの試料においても光点の移動は基準点から 1 mm 未満に推移した。豚膵臓リパーゼについてもリパーゼ 0.50 g を pH 8.0 リン酸緩衝液 50 mL に溶かし, 同様の実験を 4 時間行った。結果はこのリパーゼについても 4 時間の間に光点の移動は確認できなかった。以上より両リパーゼについて最初 20 分ほど攪拌して均一な溶液としたのちは攪拌を継続しても測定値に影響をあたえるような物質は溶出しないものと結論した。

(2) (3) の実験結果より, オリーブ油をリパーゼ溶液に加えて分解反応をすすめた結果, リパーゼ溶液の屈折率が上がった場合にはその原因を主にグリセリンに求めることは妥当と考える。

4・3 油脂のリパーゼによる分解反応

4・3・1 実験方法

装置の概略については図 4・9 に示した。本実験ではウォーターバス内の試料溶液の攪拌が必要になるが, そのために自作したマグネチックスターラーを図 4・10 に示す。

実験手順は以下のとおりである。

- ① pH 8.0 緩衝液 250 mL に CRL 0.50 g を加え、よく攪拌する。
- ② 200 mL ビーカーに①の溶液を 100 mL 入れる。
- ③ ②のビーカーを 38～39 °C ウォーターバス中で、攪拌（400～500 rpm）し、溶液の温度を 38～39°C とする。
- ④ オリーブ油 50 mL をビーカーに加え、再び攪拌する。計時をスタートする。
- ⑤ 一定時間ごとに攪拌を止めて 15 分静置しビーカーの水層（リパーゼ溶液）から 5.0 mL、油層から 2.5 mL を採取する。
- ⑥ 水層からの試料はリパーゼを失活させるため、1 分間煮沸した後冷蔵保存する。
- ⑦ リパーゼを加えないリン酸緩衝液についても同様の操作を行う。

4・3・2 滴定法による脂肪酸の定量

油脂から遊離した脂肪酸の定量には、通常、滴定法が用いられる⁴⁸⁾。JIS・K0601「工業リパーゼの活性度測定法」⁴⁹⁾を参考に測定方法を決定した。

(1) 準備物

エタノール：一級，99.5 Vol%以上

アセトン：一級，98%以上

エタノール・アセトン混液：エタノール：アセトン＝1：1で調製する。

0.10 mol/L 水酸化ナトリウム水溶液：水酸化ナトリウムは一級を使用した。シュウ酸による滴定で濃度は正確に求めておく。

フェノールフタレイン溶液：滴定用，1.0 W/V%，キシダ化学。

(2) 実験方法

- ① 油層からの試料は採取後、ただちに滴定をおこなう。
- ② 油層からの試料 1.00 mL をホールピペットでコニカルビーカーに測りとった後、10 mL のエタノール：アセトン混液でホールピペット内壁を洗い、すべてコニカルビーカーへ移す。
- ③ フェノールフタレイン溶液 2 滴を加え、0.10 mol/L NaOH 水溶液で滴定する。微紅色で 30 秒持続をもって終点とする。
- ④ ①～③は 2 回行い、平均を求める。

- ⑤ 分解前のオリーブ油についても滴定をおこない、反応前の値とする。
- ⑥ リパーゼを加えていない緩衝液の油層から採取した試料についても同様の操作をおこない、空試験とする。

4・3・3 屈折法によるグリセリンの定量

(1) 準備物 標準グリセリン溶液：0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 mol/L。溶媒には pH 8.0 の緩衝溶液を使用する。

(2) 実験方法

- ① 水層からの試料溶液は透明度を確保するためシリンジタイプのメンブランフィルター (0.8 μ m ADVANTEC 25CS080AN) でろ過する。十分な時間静置し、試料を室温に戻す。
- ② 標準グリセリン溶液を装置の三角セルに入れ、レーザー光の光点の位置を記録し、その移動距離から検量線を作成する。
- ③ 反応前のリパーゼ溶液をまず装置の三角セルに入れ、レーザー光の光点の位置に印をつけ、これを基準点とする。
- ④ 水層からの試料を順に装置に入れ、光点の位置を記録する。セルからの試料の出し入れには使い捨てポリエチレン製ピペット (LP ITALIANA SPA 3 mL 135030) を用い、試料間の汚染を防ぐため各試料に1つのピペットを割り当てる。
- ⑤ 基準点からの移動距離を求める。
- ⑥ 検量線をもとに試料溶液中のグリセリン濃度を求める。

4・3・4 実験結果と考察

実験は4回実施し平均を取った（そのうち1回は2時間までの測定である）。図4・11に示した通り、時間と共に生成する脂肪酸とグリセリンの増加が観察された。図4・12に反応時間ごとの脂肪酸量とグリセリン量の比を示した。反応直後におけるグリセリンの比が低いのはモノグリセリド及びジグリセリドが優先的に生成することを推測させるが、反応開始から3時間でほぼグリセリン：脂肪酸=1：3になることがわかった。

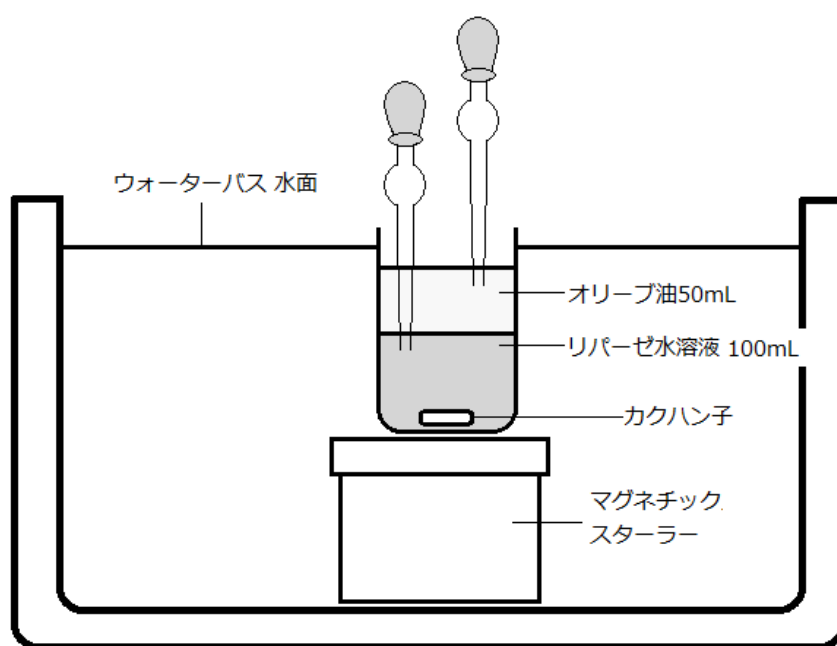


図 4・9 分解反応の装置概略



図 4・10 自作の防水型マグネチックスターラー⁵⁰⁾

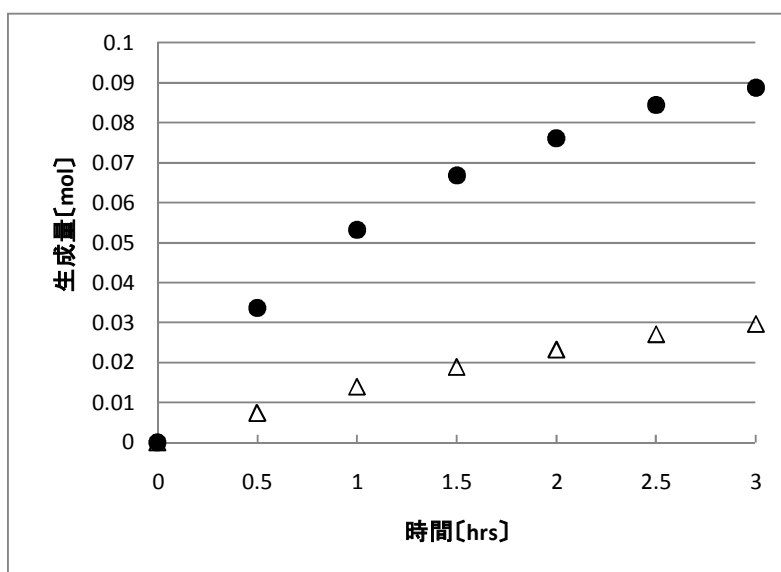


図 4-11 *C. rugosa* によるオリーブ油の分解

●脂肪酸 △グリセリン

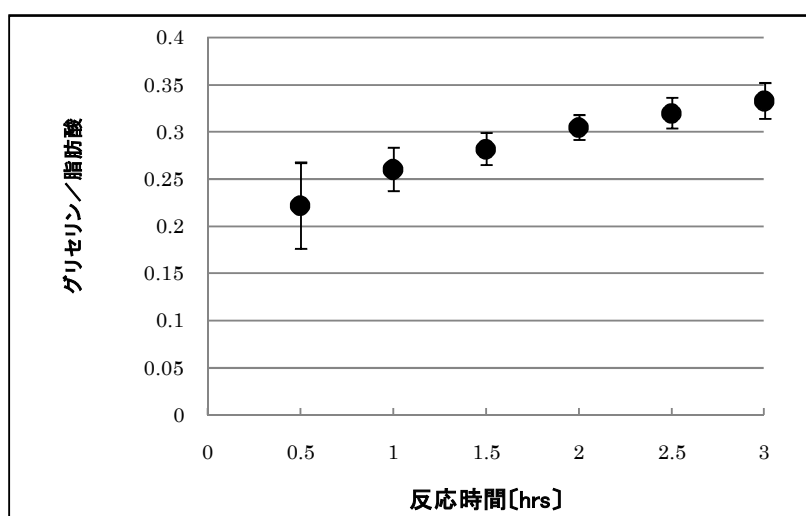


図 4-12 グリセリンと脂肪酸の物質質量比

(平均値±S.D.)

4回実施した実験で3時間後の脂肪酸量は最大23%（グリセリン量では29%）の差があり、これは4回の反応速度に毎回差異があることを示している。反応条件はそろえているが、攪拌速度は自作マグネチックスターラーに接続しているパワーハウスの電圧値で調整しており、同一電圧でも400~500 rpm程度の差が出る。油滴の分散状態のわずかな差は活性に大きく影響するため、これが原因と考えられる。

反応の初期ほど、反応の進行に伴いグリセリン／脂肪酸比は顕著に上昇することを図 12 は示している。0.5 時間後の S.D. が大きくなっている理由として、この初期段階のグリセリン／脂肪酸比が反応速度の影響を強く受けることが挙げられる。最小の反応速度を示した 4 回目の実験における 0.5 時間後のグリセリン／脂肪酸比が最も低い値を示したことはこの考察と一致するが、結論を出すにはさらに検討が必要である。なお、2.5、3.0 時間後の S.D. がわずかに増加しているのはそれ以前が 4 回測定しているのに対し、この 2 時点は各 3 回の測定と少ないことによるものと考えられる。

3 時間後のグリセリン量が脂肪酸の約 3 分の 1 を示したことは屈折法による分析値の妥当性を示唆するが、グリセリンの測定は各試料 2 回ずつおこない、光点距離にして最大 3.0 mm の差が生じた。溶液の吸引時にピペットの先ができるだけセルに当たらないよう留意したが三角セルの微小な位置のずれは直接測定誤差の原因となる。また、ピペットの吸引だけでは試料は完全にセルから払拭できているとはいえ、次の試料の汚染につながっていることは考えられる。これら誤差要因の低減は今後の課題である。

4・3・5 屈折法と酵素法の比較

グリセリンの定量分析法には、酒類・食品中の含量測定用として酵素法が用いられており⁵¹⁾、(株) JK インターナショナルより分析試薬 F-キット グリセロール (3×約 10 回測定用、紫外部吸光度測定法) が市販されている⁵²⁾。屈折法による分析結果を、この酵素法と比較したのが表 4・3 である。屈折法は平均して酵素法の 93% (標準偏差 0.09) とやや低い値をとるが簡易分析法としては有効な実験教材になりうると考える。

4・3・6 消化酵素入り胃腸薬を用いた実験

本分析法を教材として活用する場合、準備物はできるだけ手軽に揃えられることが望まれる。そこで消化酵素入りの胃腸薬 (ストマーゼ顆粒 ゼリア製薬, リパーゼ AP6 20 mg / 1 包) を使用し、CRL の代替となるかどうかを調べることにした。

(1) 実験方法

胃腸薬 12 包 (リパーゼ AP6, 240 mg) を水 120 mL に溶かし、ろ紙 (ADVANTEC 1, 125 mm) を用いて、一晩かけてろ過する。このろ液 100 mL (pH 7.8) を使用し、III1,

2, 3 の方法により脂肪酸量とグリセリン量を定量する。

(2) 実験結果と考察

反応時間 3 時間後の脂肪酸量は、油脂 50 mL 中 1.0×10^{-3} mol となり、同条件で CRL を用いた時の約 90 分の 1 の生成量であった。0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 6.0 時間後のいずれの試料についても屈折法によるグリセリンは検出できなかった。リパーゼ AP6 の酵素活性は 6000~7500 u/g であり⁵³⁾, CRL の ≥ 700 u/mg に比べて低いことが原因と考えられる。反応速度を上げるために胃腸薬溶液の濃度を 2 倍に増やしてみたところ 6 時間後に溶液は乳化し、油層と水層に分離しなくなった。原因として成分のウルソデオキシコール酸（胆汁酸の一種）の作用が考えられる。胃腸薬が 1 箱（16 包）800 円程度であることを考えると価格的にも CRL を購入するほうが妥当との結論に至った。

表 4・3 屈折法と酵素法の比較

反応時間 〔h〕	グリセリン(mol/L)		屈折法/酵素法
	屈折法	酵素法	
0.5	0.083	0.077	1.1
	0.072	0.066	1.1
	0.052	0.056	0.93
1	0.173	0.182	0.95
	0.135	0.171	0.79
	0.106	0.116	0.92
2	0.282	0.321	0.88
	0.229	0.266	0.86
	0.190	0.220	0.86
3	0.355	0.381	0.93
	0.282	0.323	0.87
	0.253	0.257	0.99
平均			0.93
S.D.			0.09

4.4 部活動における実践

本分析法を教材として用いた実践例として理科部の活動のなかでリパーゼの位置特異性の検証とリパーゼの至適温度，至適 pH の測定をおこなったので報告する。なお，この研究成果は平成 23 年兵庫県総合文化祭において部員により発表された。

リパーゼの位置特異性については，トリグリセリドの 2 位に作用しない豚膵臓リパーゼ (L0057,東京化成工業) と位置特異性をもたない CRL を用いてオリーブ油の分解をおこない，グリセリンの生成の有無から検証した。結果は図 4・13, 4・14 に示したとおりで，図 4・14 は図 4・11 と同様の結果が得られ，図 4・13 においては脂肪酸の増加量に比較してグリセリンの顕著な増加は認められなかった。ただし，微量のグリセリンは検出されており，この要因として非酵素的に生じるアシル基転移により 2-モノグリセリドが 1 (3) -グリセリドに変化し，それがリパーゼにより分解されてグリセリンを生じたことなどが考えられる (54)55)。しかし，詳細は今後の課題である。

図 4・15 は CRL の至適 pH を求めた結果である。グリセリンの増減幅は小さく，明かなピークは認められないが，脂肪酸量より至適 pH は 5 程度と考えられる。図 4・16 は至適温度を求めた結果である。脂肪酸の値からは 40~45℃，グリセリンからは 50℃前後とピークの位置にずれがみられるが，測定は各温度 1 回ずつであり，さらに実験を重ねる必要がある。

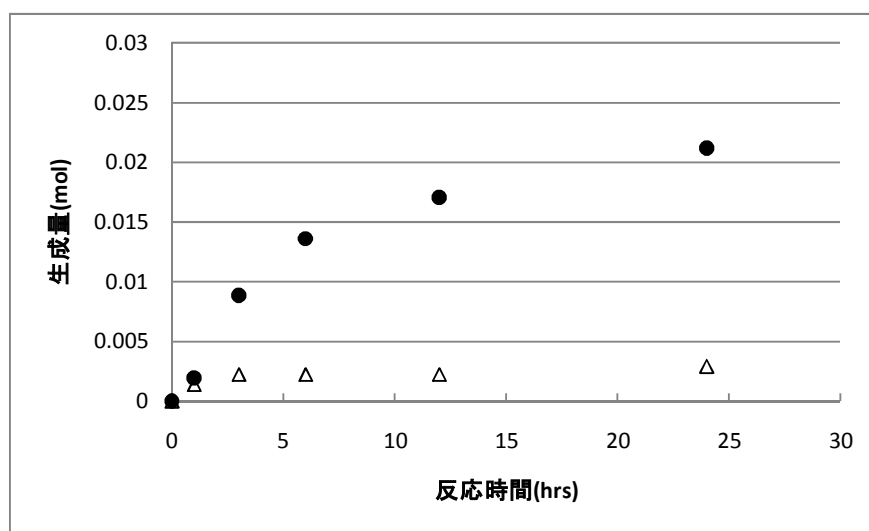


図 4・13 豚膵臓リパーゼによるオリーブ油の分解 (●脂肪酸 △グリセリン)

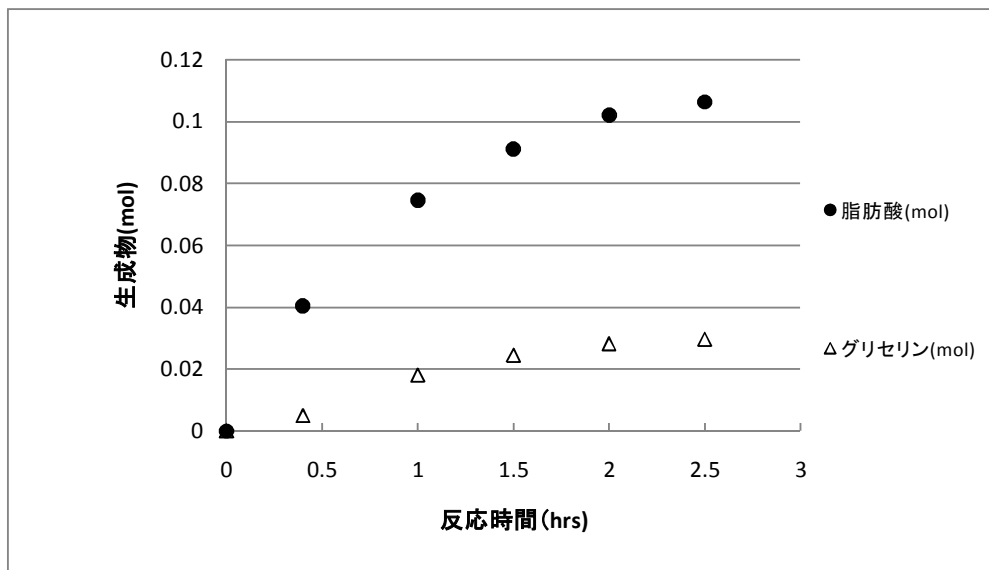


図 4・14 CRL によるオリーブ油の分解

(●脂肪酸 △グリセリン)

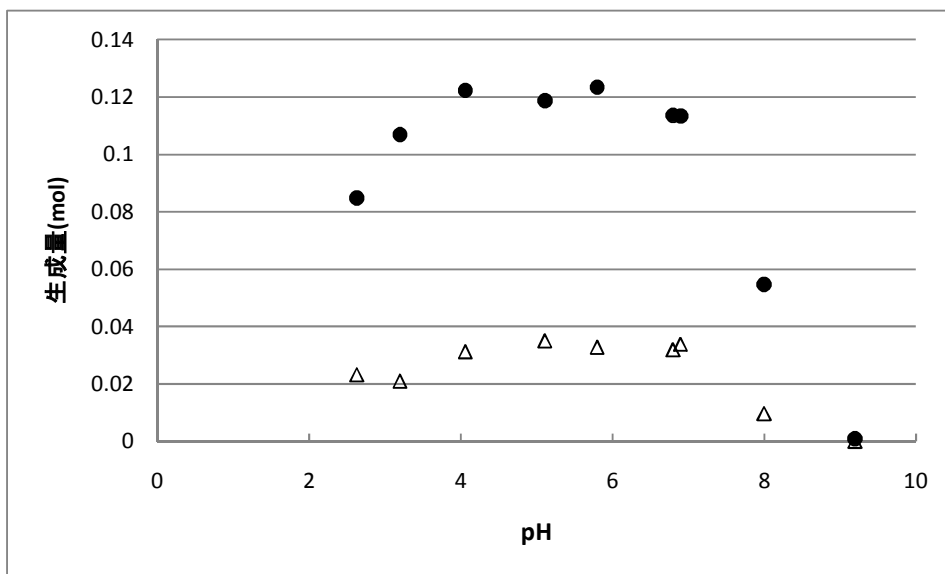


図 4・15 CRL の至適 pH

(●脂肪酸 △グリセリン)

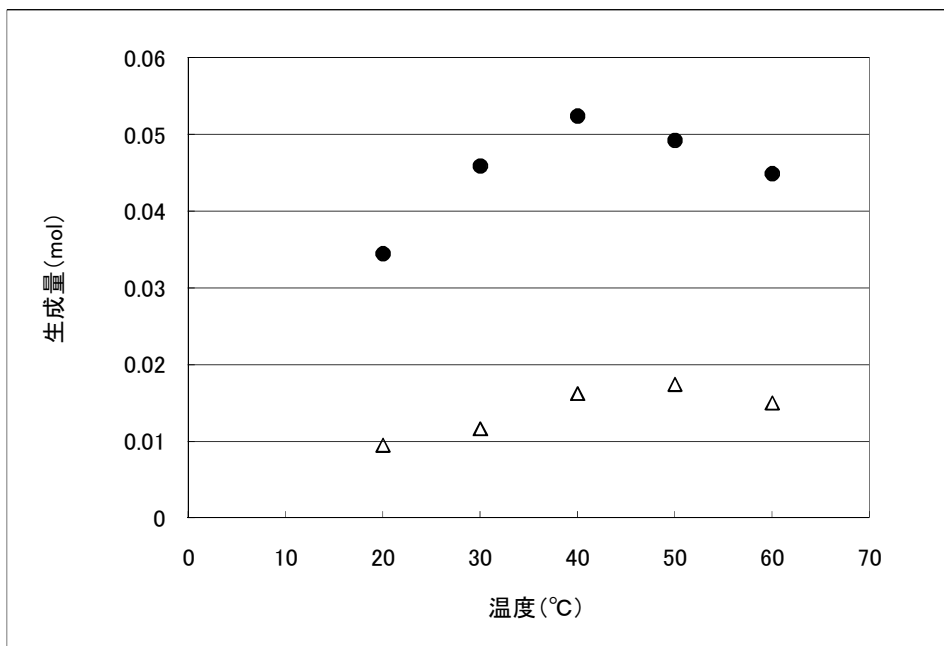


図 4・16 CRL の至適温度

(●脂肪酸 △グリセリン)

4・5 教材としての可能性と課題

屈折計の製作には特別の材料や難しい加工を必要とせず、本装置を用いたグリセリンの定量法についても脂肪酸の滴定法に比べ操作は簡便で、中学校・高等学校における教材としては有効であると考えられる。部活動における実践では滴定法については安定した値を得るまでに回数を要したものの、屈折法は手際よく操作する様子が観察された。実験が 50 分に収まらない点は、授業のなかでの実験を考えるうえでは課題であるが、総合的な学習の時間や課題研究あるいは紹介したような部活動での実践に広く活用できるものと考えている。

第5章 自作蛍光光度計の製作と教材化

5.1 身近な物質の定量化に向けた取り組み

従前の学習指導要領では物理，化学，生物，地学の「Ⅱを付した科目」の最後で課題研究の編を組み，数多くの研究テーマが例示された。新教育課程に移行してそれらは「理科課題研究」にまとめられることとなったが，これからの課題研究を考えるに当たって，それらは十分参考になる。化学Ⅱを例に挙げると身近な物質や環境調査に関わる定量実験がよく取り上げられている（表 1・1）。特に取り上げられることの多い定量分析法としては，滴定法あるいは簡易検査キット（パックテスト）の比色法があるが，本来，微量の定量を精度よく測定するためには機器分析が必要となる。高価な分析機器の使用は高等学校以下においては困難であるとの配慮が考えられるが，自作の分析装置を工夫することによって対象化学種を十分に測定しうることについてはすでに述べた。

今回は，比色法よりも一般に感度と選択性に優れる蛍光光度法を自作装置で試みた。一般に溶液中の希薄な蛍光物質の蛍光強度は濃度に比例しこの蛍光強度から定量分析が可能となる。図 5・1 には蛍光物質が蛍光を発するプロセスを示した。蛍光物質に紫外線などの光を照射して分子軌道電子を励起すると一旦，高次の一重項励起状態に遷移する。これらの電子は過剰のエネルギーを熱として放出しながら第一励起状態の最低振動順位へと速やかにもどる。この状態から基底状態に遷移するとき蛍光が放出される。このため蛍光は入射光よりもエネルギーは低くなり，吸光スペクトルと蛍光スペクトルを比べると蛍光は長波長側にシフトする。図 5・2 にサリチル酸の測定例を示す。蛍光物質は芳香族化合物に多く，医薬品や生体成分，食品中の栄養素分析など蛍光光度法による微量分析の応用範囲は広い。

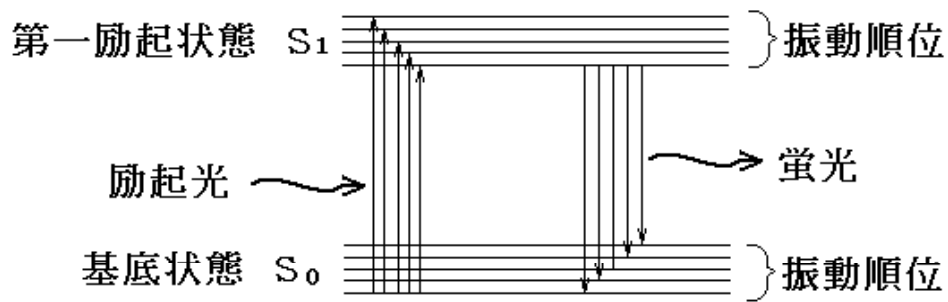


図 5・1 吸収から発光までのプロセス

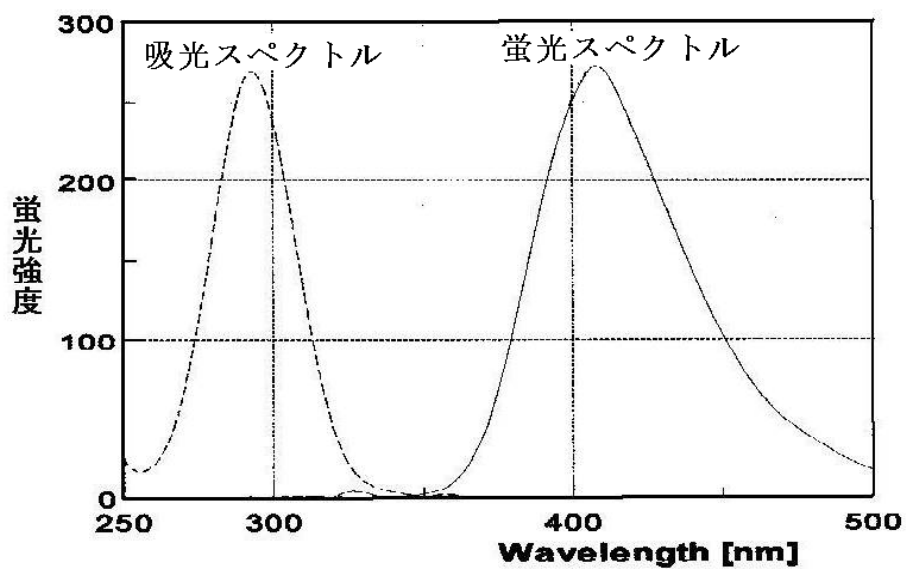


図 5・2 サリチル酸の吸光・蛍光スペクトル

(溶媒 : 10^{-2} mol/ L NaOH 水溶液)

分光蛍光光度計 (日本分光FP-6200) 使用

5.2 自作蛍光光度計に関する研究

青色LEDを光源としてクロロフィルの蛍光を観察する教材としては本田ら（2002）⁵⁶⁾の研究がある。この研究は分子の光吸収及び蛍光現象を理解する教材の開発を意図したものであり、青色LEDを励起光としてクロロフィルの赤色の蛍光を肉眼で観察できることを示している。

この研究を発展させ、クロロフィルの定量が可能な自作蛍光光度計を製作する試みは村松ら（2004）⁵⁷⁾によってなされている。村松らは湖沼の富栄養化をクロロフィル量によって把握する環境学習の教材化を目的としており、光源に紫外線LEDを用い受光部にフォトトランジスターを用いた蛍光光度計を自作している。装置の完成度は高いが生徒一人ひとりが製作するには部品や筐体の加工が複雑である点と約15000円と高額である点が課題として挙げられる。

この他、萬木（2003）⁵⁸⁾による簡易蛍光光度計を用いた金属アルミニウムの定量に関する研究がある。光源にLED、受光部にフォトダイオードを用いた設計であるが、この場合も蛍光測定装置の回路が複雑な点が生徒の自作には不向きと考える。

今回、装置を製作するに当たり考慮したことは、①生徒が測定原理を理解できる簡単な構造 ②生徒が自作できる加工しやすい素材 ③身近で安価な材料の使用である。

光源にはLED（発光ダイオード）を使用し、受光部には光電池を利用した。LEDは現在様々な単色光が市販されており、用途に応じて選択の幅が広い。また、光電池は小学校の教材としても用いられ、光の強度と発生する電気量の関係についてはすでに生徒は学習済みである。フォトダイオードよりも抵抗なく生徒に受け入れられると考えた。

今回、試料にはフルオレセインとリボフラビンを用いた。どちらも蛍光物質としてはよく知られたものであり、LEDを励起光として強い蛍光が期待できる。一方でフルオレセインは入浴剤の着色剤として、リボフラビンはビタミンB₂として身近に利用している物質でもある。教材として取り上げるにも適していると考えた。

本章ではまず、自作した装置の設計と特性について述べ、次に本装置を活用した授業実践の内容と結果を報告したうえで、本装置の教材としての有効性を論じる。

5.3 蛍光光度計の製作

装置の概略図を図 5.5 に示す。塩化ビニル製パイプ（内径 20 mm，長さ 165 mm）の一部を図 5.3 に示すとおり半面切り取り，下端にはゴム製クッションパッド（GCP-10B,WAKI SANGYO）を窪みのあるほうを内に向けてはめ込む。クッションパッドには中央に直径 5 mm のビス止め用の穴が空いており，直径 5 mm の LED を差し込むとびたりと固定される。パイプには厚紙（裏面は黒色）で作成した箱を差し込み接着剤で固定する。パイプの切り取った部分と向かい合う厚紙の内面には多結晶型シリコン光電池（KYOHRITSU，60 × 30 mm， $V_{oc}=1.2$ V， $I_{oc}=170$ mA）を両面テープで固定する。パイプはスタンドによって縦に固定し，上から試料溶液の入った試験管（外径 18 mm）を差し込み，塩ビ製のふた（TS キャップ 20）をする。クッションパッドの内側の窪みはこのとき，試験管の底を固定するのに役立つ（図 5.5）。試験管の底から LED の光が入射すると試験管の底の球面が凸レンズとしてはたらくため，光は試験管内部で集光し，周囲にはほとんど漏れない。試験管の水溶液から放射される蛍光はパイプを切り取った部分より出て正面の光電池を照射する。蛍光強度は光電池に直接つながれたデジタルマルチメーター（ポケット DMM AD-5527 エーアンドデイ製）の電圧値(mV)により測定される。

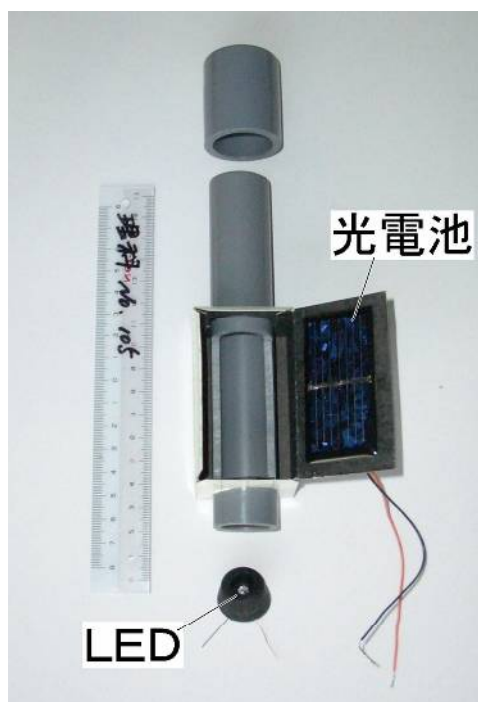


図 5.3 蛍光光度計の全体写真（厚紙の正面を開いたところ）

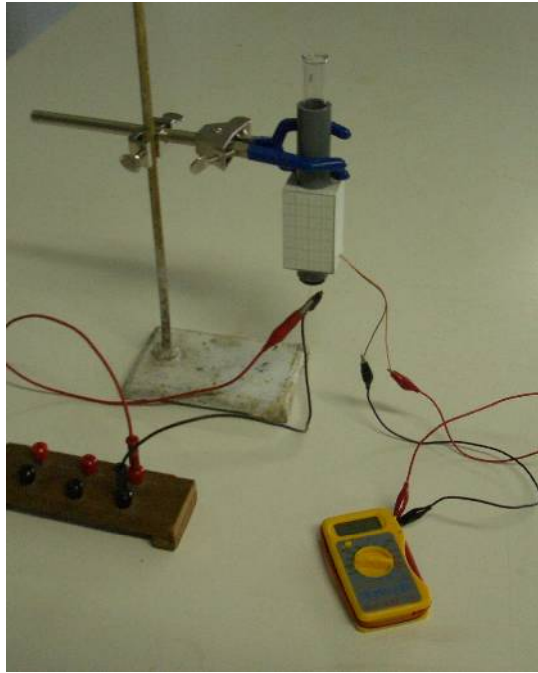


図 5・4 蛍光光度計を組み立てた状態
(試験管を差し込み, ふたを取った状態)

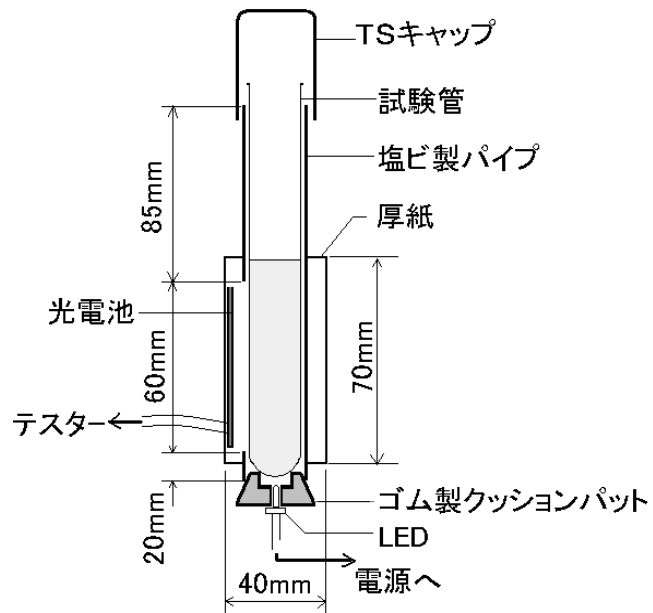


図 5・5 蛍光光度計の概略図

5.4 低濃度における測定の原理

光源の強度を I_0 、蛍光物質の濃度を C とすると、蛍光強度 F は次の式で示される⁵⁹⁾。

$$F = p I_0 (1 - 10^{-abc}) \cdots (1)$$

ただし、 a は蛍光物質の吸光係数、 b はセル中の溶液層の厚さ、 p は比例定数である。

$C \ll 1$ のときは(1)式を展開して次式に置き換わる。

$$F = 2.3 p I_0 a b C \cdots (2)$$

(2)式より F は C に比例することが示される。

本実験では蛍光強度 F を求めるのに、多結晶シリコン光電池の起電力 E (mV) を用いた。一般に光電池の起電力は入射光強度 I (lx) の対数的変化に比例する。 $I = 0$ のとき、 $E = 0$ となるため次式が示される。

$$E = d \log(I + 1) \cdots (3)$$

ただし、 d は光電池によって決定される定数である。

実験に用いた光電池の入射光強度 I (lx) と起電力 E (mV) の関係を図 5.6 に示す (測定機器 I : デジタル照度計 LM 科学共栄社製, E : ポケット DMM AD-5527 エーアンドデイ, 光源 : 豆電球 2.5 V + 赤外線カットフィルター MEIRITU TS-0801R1)。図 5.7 は $\log(I + 1)$ と E が比例することを示しており、 $d = 207.7$ が求められる。

蛍光を光電池で受ける場合、 F を光電池の入射光強度 I とみなせるので、(3)式は次式に置き換えられる。

$$E = d \log(F + 1) \cdots (4)$$

(2)(4)より

$$10^{\frac{E}{d}} = 2.3 p I_0 a b C + 1 \cdots (5)$$

(5)式より蛍光物質濃度 C は $10^{\frac{E}{d}}$ に比例することが導かれる。

これは横軸に C を縦軸に $10^{\frac{E}{d}}$ をとったグラフが検量線となりうることを示す。

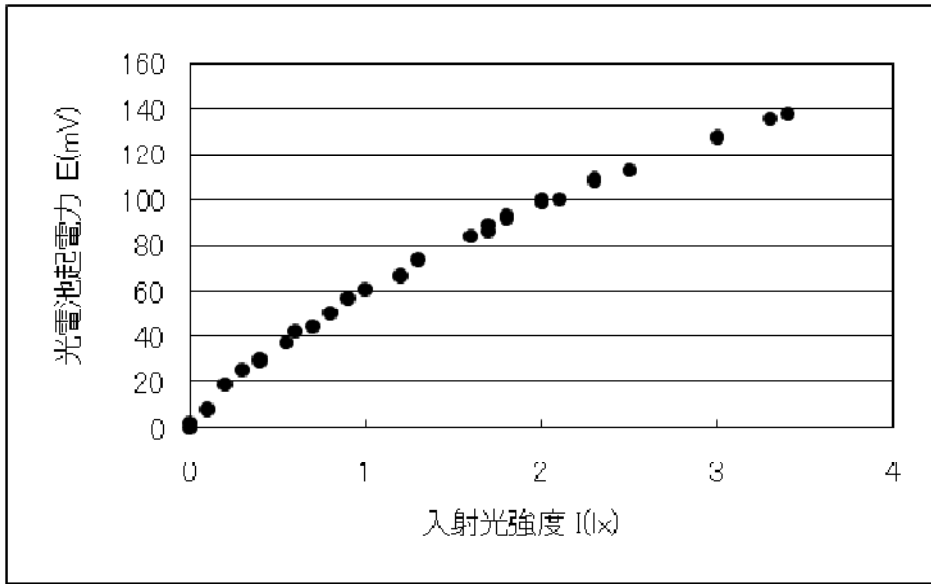


図 5・6 入射光強度と光電池の起電力の関係

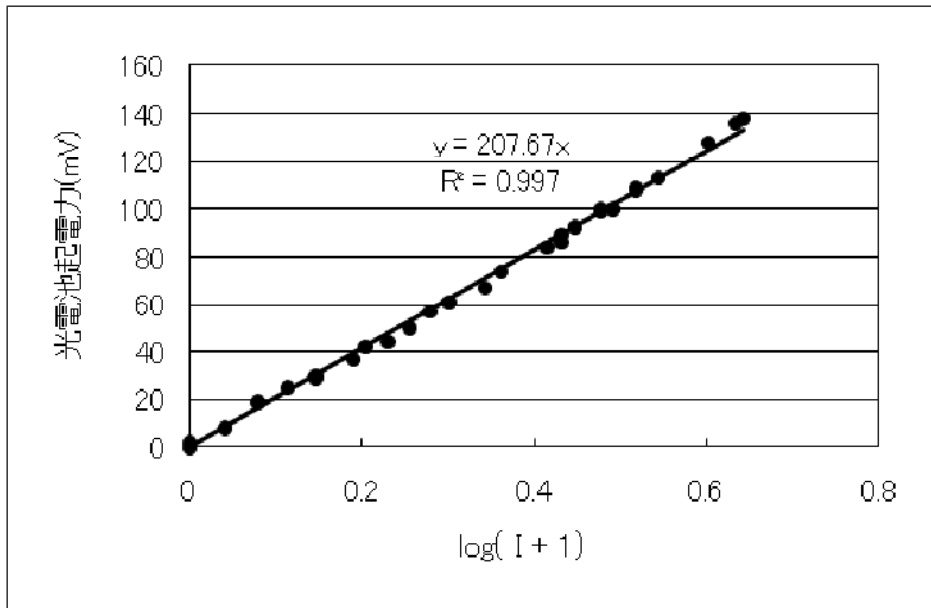


図 5・7 $\log(I + 1)$ と起電力 E の関係

5.5 検量線の作成

5.5.1 リボフラビンの検量線

リボフラビンはビタミンB₂として知られ、食品中には牛・豚レバー、酵母やほしのりに多く含まれる。アミノ酸、脂質、炭水化物の代謝に関与する水溶性ビタミンで、欠乏症として口唇炎、角膜炎が知られている。ビタミン剤にも含有される栄養素として重要かつ身近な物質である。水溶液は黄色を呈し、強い黄緑色の蛍光を発する。

(1)測定の場合

高速液体クロマトグラフィーによる定量分析の場合、蛍光検出器の条件は励起波長 445 nm、蛍光波長 530 nm である⁶⁰⁾。この条件に近いものとしてLEDは紫外線LED(395 nm, SDL-5N3CUV-A, 3.7 V)と青色LED(430 nm, 51B3SCB08, 3.8 V)を選んだ。また、試験管内で散乱・反射した励起光が、受光部の光電池を照射する程度を調べるため、光電池をSC46フィルター(460 nm以下の光をカットするフィルター, FUJI FILTER SC,460 nm)で覆う場合と覆わない場合で測定値を比較した。すなわち以下の4条件で実験を行った。

①LED(395 nm)

②LED(395 nm) + SCフィルター(460 nm)

③LED(430 nm)

④LED(430 nm) + SCフィルター(460 nm)

同一試料は3回ずつ測定し、平均値をその濃度の測定値とした。

(2)標準溶液の作成

リボフラビン 0.010 g を 1 L の精製水に溶かし、10ppm 水溶液とする。ここから 0.2 ~ 2.0ppm まで 0.2ppm 刻みで水溶液を調整し、標準溶液とする。リボフラビンは光分解するため、使用するとき以外は明るいところに出さないように注意する。

(3)結果

本光度計の計測値は安定しており、同一試料 3 回の測定値のばらつきはいずれも 3 % の幅に収まった。図 5・8 にリボフラビン濃度(ppm)と光電池起電力(mV)の関係を示す。吸収極大波長(445 nm)に近い青色LED(430 nm)の感度の方が紫外線LED(395 nm)よりも高

い。青色 LED(430 nm)では濃度が高いほどフィルターの有無の差が大きくなるが、これは濃度が高いほど、溶液中の粒子からの散乱光が強くなるためと考えられる。いずれも濃度に対して起電力Eの対数的変化が読みとれるため、縦軸に $10^{E/160}$ をとったのが図 5・9 である。いずれも直線性がよく、検量線として使用できることが分かる。一方、紫外線 LEDの感度は低いがフィルターの有無の差は小さい結果となった。シリコン光電池の分光感度は紫外線領域においてはきわめて低く、このため励起光にはほとんど反応していないものと考えられる。この条件においても縦軸に $10^{E/d}$ をとることで検量線を作成することができる(図 5・10)。

(4) 考察

標準溶液の測定においては感度の差はあるもののいずれの条件でも検量線の作成が可能となった。以上の結果からは感度が高い青色LED+フィルターなしが最も良い条件と考えられるが、実際に未知試料を測定する場合には共存物質からの散乱光の影響も考えられるため、それぞれの場合に応じた条件の設定が必要となる。

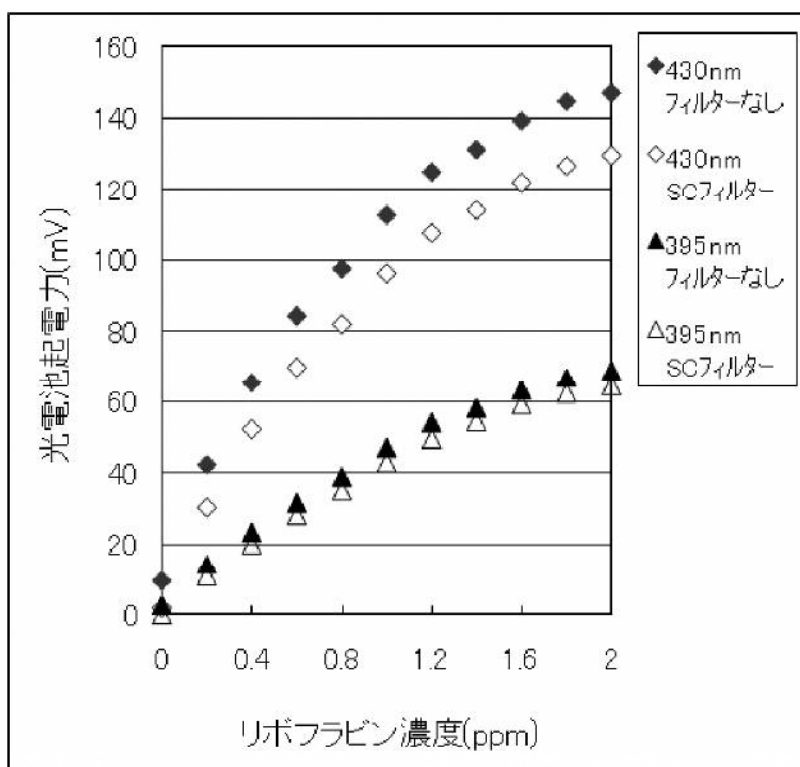


図 5・8 リボフラビン濃度と光電池起電力Eの関係

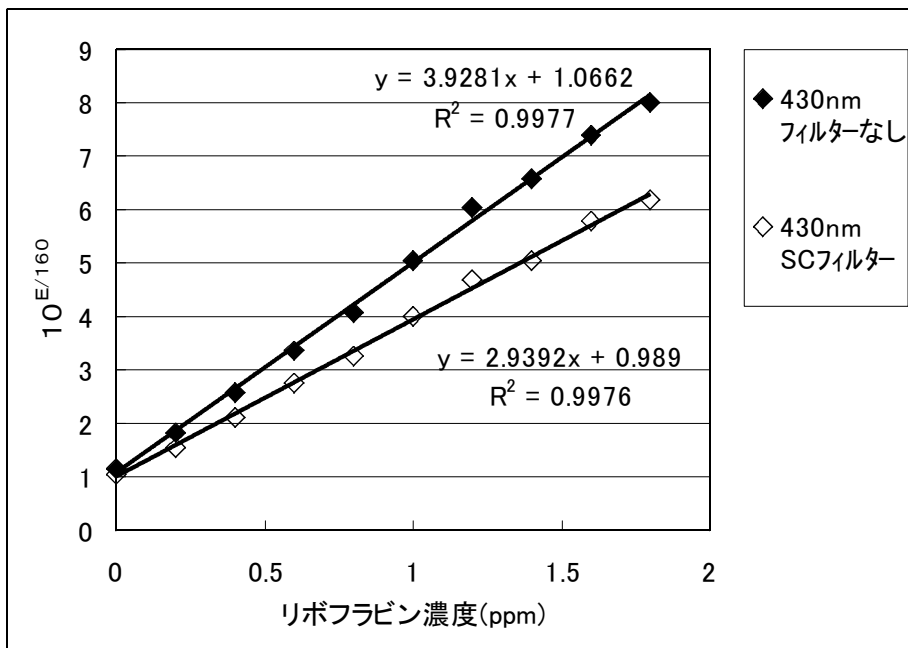


図 5・9 リボフラビン濃度と $10^{E/160}$ の関係

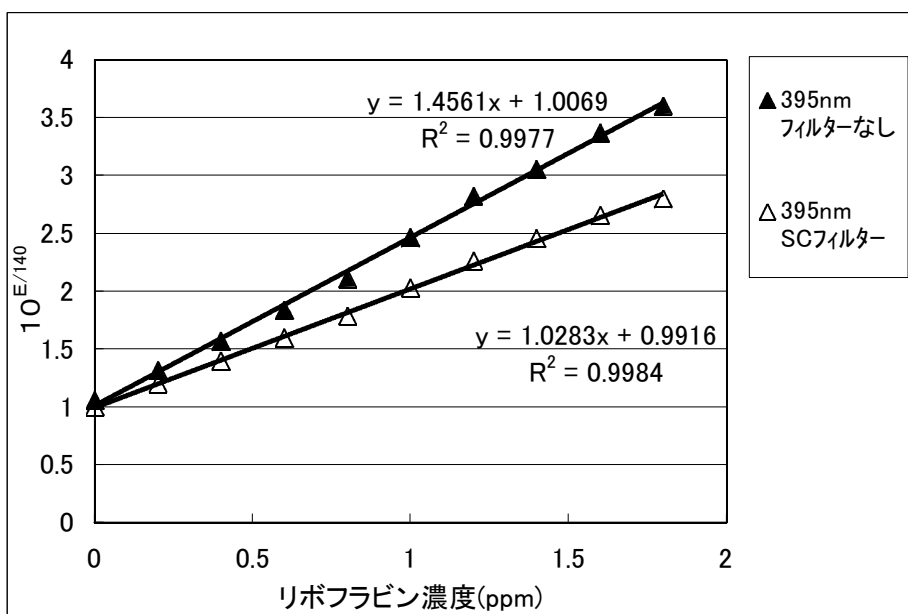


図 5・10 リボフラビン濃度と $10^{E/140}$ の関係

5・5・2 フルオレセインの検量線

(1) 測定条件

フルオレセインは黄色 202 号-1 として、入浴剤に添加されることの多い蛍光剤である。励起波長 493 nm, 蛍光波長 510 nm で強い緑色の蛍光を示す。

フルオレセインについてもリボフラボンと同様の以下の 4 条件で測定を行った。

- ① LED (395 nm)
- ② LED (395 nm) + SC フィルター (460 nm)
- ③ LED (430 nm)
- ④ LED (430 nm) + SC フィルター (460 nm)

(2) 標準溶液の調整

フルオレセインナトリウム塩 0.100 mg を 1 L の水に溶かし、100ppm 水溶液とする。これを希釈して 0.2 ~ 1.6ppm まで 0.2ppm ごとの標準溶液をつくる。

(3) 結果と考察

フルオレセインナトリウム塩濃度と光電池起電力 E の関係を図 5・11 に示す。青色 LED (430 nm) の感度は高いが 1.5ppm で極大に達する事が分かる。1.0ppm までは起電力 E はフルオレセインナトリウム塩濃度に対して対数的に変化するため、縦軸に $10^{E/200}$ をとることで図 5・12 に示すとおり、検量線を作成することができる。紫外線 LED (395 nm) では感度は悪いが、1.6ppm まで検量線を作成することが可能である (d = 200, フィルターなし : $r^2 = 0.9908$, フィルターあり : $r^2 = 0.9949$)。

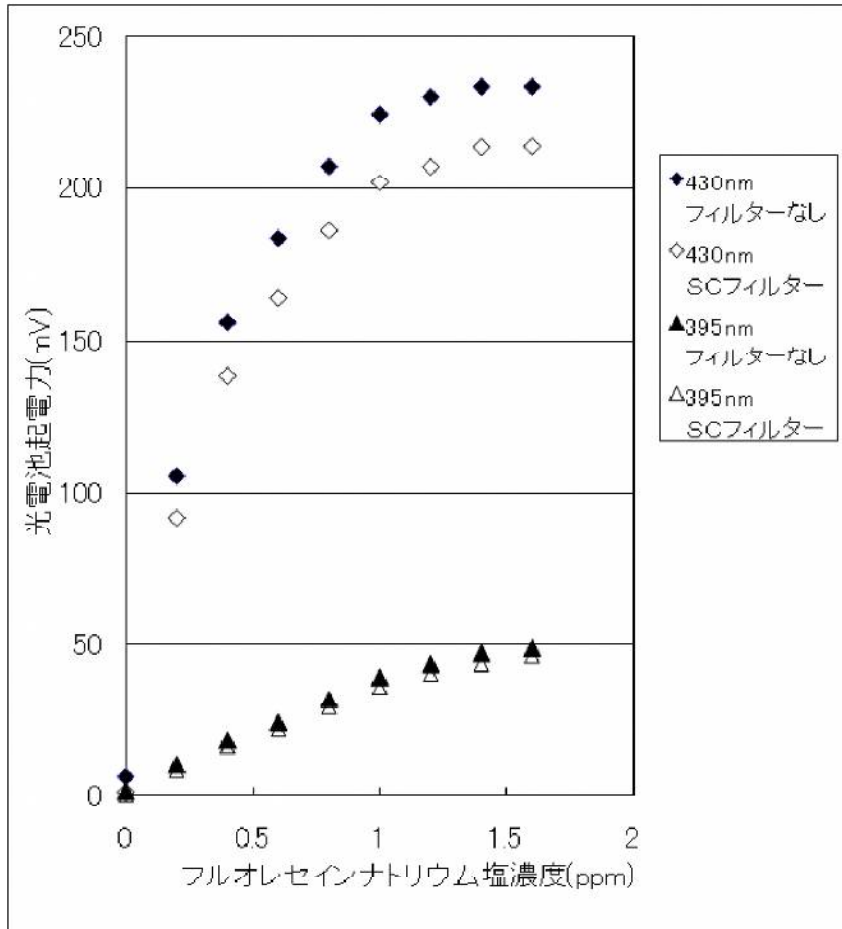


図 5・11 フルオレセインナトリウム塩濃度と光電池起電力Eの関係

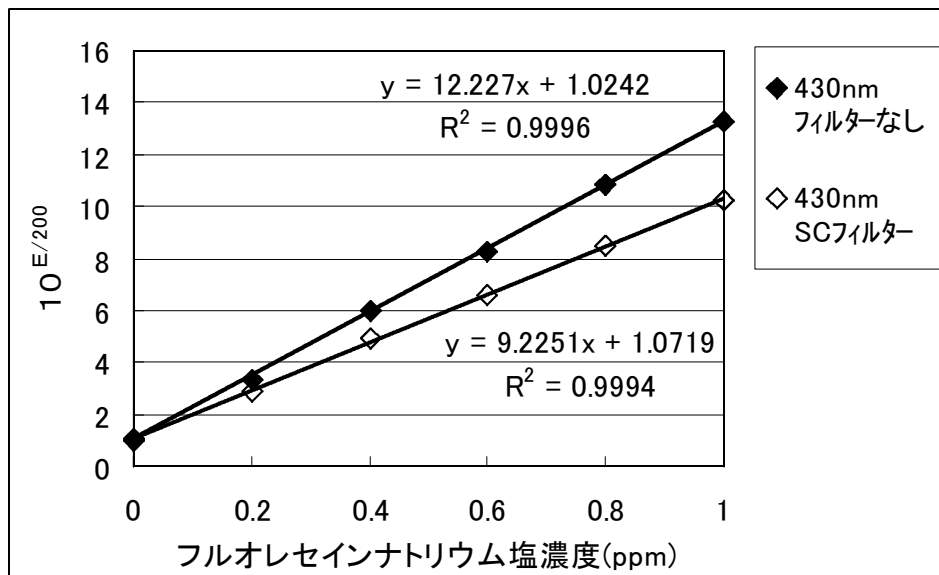


図 5・12 フルオレセインナトリウム塩濃度と $10^{E/200}$ の関係

5・6 授業実践

5・6・1 授業の概要

以上、自作装置の基礎実験の結果について述べた。ここでは本装置の教材としての有効性を調べるためにおこなった授業実践の報告をする。

(1) 授業の目的

機器分析の基礎である検量線を用いた定量分析を一人一実験形態で行うことで、実験への意欲・関心の向上と分析法の理解を深める。ビタミン剤中のリボフラビンの含有量を定量する。

(2) 対象の生徒

生物を選択受講する3年生16名(全員女子)で、すでに栄養素としてのリボフラビンの働きを学習している。年度を締めくくる授業として、3時限をかけてこの実験を行う。

(3) 実験の準備

ビタミン剤(Nature Made B-2,大塚製薬,1粒あたりリボフラビン14 mgの成分表示)1粒(0.3 g)を適当量の温湯に溶かし、不溶物をろ過する(ろ紙:定性用ADVANTEC No.2)。ろ液に水を加えて1 Lとする。実験時にはさらに10倍に希釈して使用する。

リボフラビン標準溶液は0.0, 0.4, 0.8, 1.2, 1.6, 2.0ppmを用意する。光度計は光源に青色LED(430 nm)を用い、SCフィルターは使用しない。

(4) 授業の方法

3時間連続の授業において表5・2に示す指導案に従って実施する。

1 時間目: 実験の目的と測定の原理を説明した後、装置は図5・3のように光電池の付いている面だけは開いた状態で配り、内部構造を確認させ装置の原理について説明する。その後、黒色ビニールテープで箱を密閉させ、装置の組み立てを終了した後、LEDの点灯とテスターの表示の変動を確認させる。

2 時間目: 装置の組み立てを終えた後、標準溶液とビタミン剤水溶液の測定を行う。測定は各溶液3回ずつおこない平均値を算出する。測定値を記入したプリントは授業後、回収する。教師は測定電圧値から各生徒のd値(近似直線の r^2 が最大となる値)をパソコン

で計算し、次の時限までに換算値をプリントに記入しておく。

3 時間目：各自に検量線を作図させ、ビタミン剤中のリボフラビン濃度を定量分析させる。縦軸に起電力Eをとったものと $10^{E/d}$ をとったものの2通り作図させ、前者にはフリーハンドで各測定値を通るなめらかな曲線を描くこと、後者は近似される直線を引くことを指示する。ともに検量線として、未知試料の測定値を当てはめリボフラビン濃度を算出させる。

(5)教材の評価

以下の項目について調べ、本装置の教材としての有効性を評価することとした。

①生徒の実験結果から自作装置の測定精度の妥当性を調べること。

②質問紙調査から以下の3項目について調べること。

情意的側面：自作装置を用いることで学習への意欲・関心は高まるか。

認知的側面：検量線を用いた機器分析法は理解できたか。

技術的側面：この自作装置は生徒にとって使いやすいものであるか。

5・6・2 生徒による測定結果と考察

リボフラビン濃度と起電圧の関係を曲線で描いたグラフを検量線としてビタミン剤中のリボフラビン含有量を求めたものが表5・3の(1)であり、 $10^{E/d}$ の換算値に近似する直線を検量線として求めたリボフラビン含有量が(2)である。(2)の平均値は成分表示と一致しており、かつ生徒間のばらつきも小さい。このことは本分析装置と分析法の妥当性を裏付けている。(1)の値はそれに比べるとやや測定値に誤差がありばらつきも大きいですが、しかし、それでも教材としては十分な精度であるといえる。指数関数の扱いに慣れていない生徒の場合は(1)の方法で含有量を求めさせるのも1つの方法と考える。

5・6・3 質問紙調査の結果と考察

情意的側面については、自由記述の中で「楽しかった」「おもしろかった」との感想が多く(10名)、実験に対して意欲・関心を示す生徒が多い結果となった。また、LEDの

色の鮮やかさも生徒を引きつける一因となったようである。

認知的側面については、図 5・13 と図 5・14 に結果を示した。装置の原理については装置の内部構造を観察させたことが理解の向上につながったと考えるが、蛍光の原理について十分な説明ができなかった点は反省点である。分析方法の理解については生徒一人一人が自ら作成した検量線を用いてリボフラビン含量を算出できており、グラフの結果以上に良好な結果と考える。

技術的側面については、図 5・15 に見るように本装置自体は使いやすく問題はないという結果がでた。

ただ、今回参加した生徒は物理を履修していないことも一因と考えられるが、簡単な配線にも関わらず手間取る者が数名おり、自由記述の中でも配線を間違えた、難しかったとの感想が見られた。

表 5・2 指導案（実施日：平成 15 年 1 月 14,17,21 日）

1 時間目：装置の組み立て		
	学習活動	指導上の留意点
導入	実験の目的を知る。 分析方法の原理を知る。	蛍光現象と検量線を用いた分析方法について説明する。
展開	分析装置の構造を知る。 装置を組み立てる。 光源を点灯させて、光電池の起電圧を測定する。	各自が自分の装置をよく観察するように指示する。配線に間違いがないかどうか机間巡視する。
まとめ	後かたづけと次回の内容の確認をする。	テスターの電源を OFF にするなど、後かたづけの諸注意をする。
2 時間目：装置を用いて測定値を得る。		
導入	本時の目的を知る。 装置をセットし、標準溶液と試料を準備する。	標準溶液は試験管の半分まで入れるように指示する。
展開	光源を点灯し、測定を始める。 測定は 3 回行い、平均値を求める。	測定時にふたをするように指示する。
まとめ	後かたづけとプリントの提出	授業後、データから各生徒の換算値を求める。
3 時間目：検量線を作成し、分析値を算出する。		
導入	検量線の作成方法と未知試料の濃度の求め方を理解する。	検量線の意味について再度説明する。
展開	2 種類の検量線を作成し、それぞれを用いてビタミン剤中のリボフラビン含有量を求める。	グラフを作成することで測定値の変化がわかりやすくなることに気づかせる。
まとめ	プリントの完成と後かたづけ	試料の成分表示の値を公表し、各自の値と比較させる。プリントの提出を指示する。

表 5・3 生徒の求めたビタミン剤 1 粒中のリボフラビン含有量 (mg)

生徒	(1)測定値による値	(2)換算値による値
A	13.8	14.2
B	14.0	15.0
C	13.0	12.6
D	18.2	14.4
E	13.4	14.5
F	12.4	14.4
G	14.0	13.9
H	13.4	13.4
I	13.3	14.0
J	14.0	14.6
K	13.4	13.2
L	13.0	13.7
M	13.4	13.7
N	14.4	14.4
O	12.8	13.0
P	14.4	15.0
平均	13.8	14.0
標準偏差	1.30	0.70

備考：成分表示 14 mg

表 5・4 実験の感想について自由記述欄から (一部)

- ・接続が最初わからずあせったが、うまく行ってよかった。
- ・自分の調べたビタミンB₂の値と表示の値がほぼ合っていたのでうれしかった。
- ・とてもおもしろかったです。光がキレイで、ビタミンB₂の事がよく観察できて良かったし、変化もあって成功できたと思います。
- ・濃度がこんな方法でわかるとはと驚いた。
- ・今まで実験とか面倒臭くて嫌で、好きじゃなかったけど、今回はちょっとやる気出して頑張ってみたら、ちょっと理解できたし、楽しかった。
- ・あまり難しい実験ではなかったので楽しかったです。
- ・最初は何の実験をしているのかよくわかりませんでした。でも、濃度を測っているうちに分かってきました。
- ・B₂って不思議やなあ。何で蛍光なんだろう・・・。

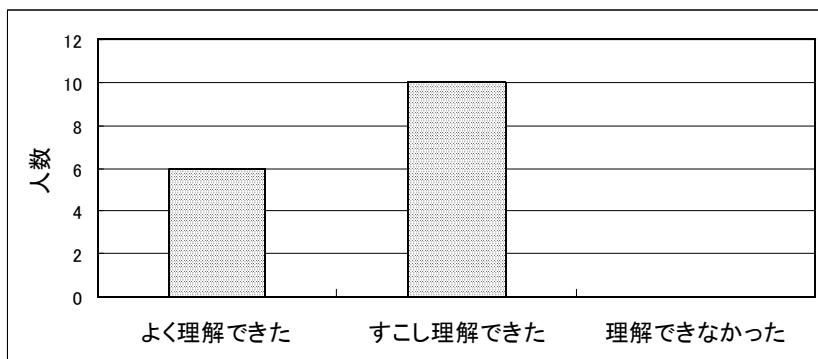


図 5・13 検量線を用いた測定方法は理解できたか

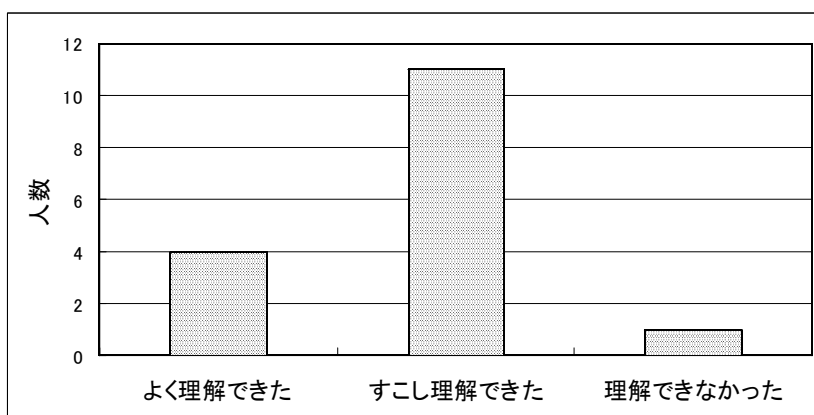


図 5・14 装置の原理は理解できたか

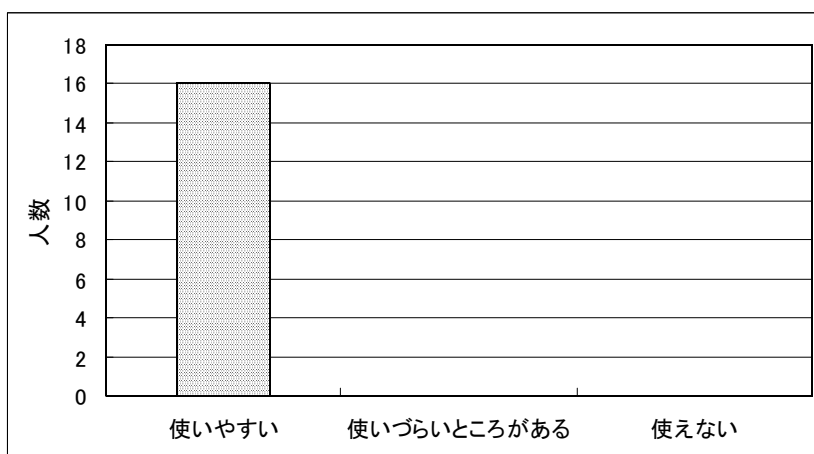


図 5・15 装置は使いやすかったか

5.7 まとめ

一般に光電池の短絡電流は照射光量に対してリニアに変化するため、今回採用した起電圧よりも測定に適している。しかし、本装置で実際に測定してみると $1 \mu\text{A}$ 以下の微弱な電流であるため、直接デジタルマルチメーターでは測定できない。増幅回路を組むことで測定は可能となるが、今回実験に参加した生徒は電気回路については学習しておらず、理解に困難な回路の挿入と煩雑な配線から難しい装置との印象をもたれることのデメリットを考えた。また実験を企画する教師側にとっても準備に時間のかからない点は魅力であり安価で製作容易な装置づくりとの観点から今回の内容とした。

ただし、検量線を直線に近似させるために増幅回路を導入する試みは今後の課題である

今回開発した分析装置は蛍光光度法に基づいており、蛍光の基本原理を理解させるという点では高等学校以下の学習内容としてはやや難しい点があると思われるが、検量線を用いた分析法は生徒にとって十分理解可能であり、装置の操作にも困難な点はない。その高い感度と精度を考慮すれば、学校現場で簡易に行える微量分析装置として広く活用の可能性があると考えられる。

第6章 食品に含まれるビタミンB₂の定量分析の試み

6.1 食品中のビタミンB₂

図 6.1 に示すようにビタミンB₂は天然には遊離型のリボフラビン及び誘導体型のフラビンモノヌクレオチド (FMN)、フラビンアデニンジヌクレオチド (FAD) の3種類の形で存在する。パン酵母、牛・豚肝臓、脱脂粉乳、椎茸などに比較的多く含まれる。五訂日本食品標準成分表分析マニュアルによれば、上記3種類をリン酸分解酵素によって遊離型のリボフラビンに変換し、総ビタミンB₂量として定量している⁶⁾。

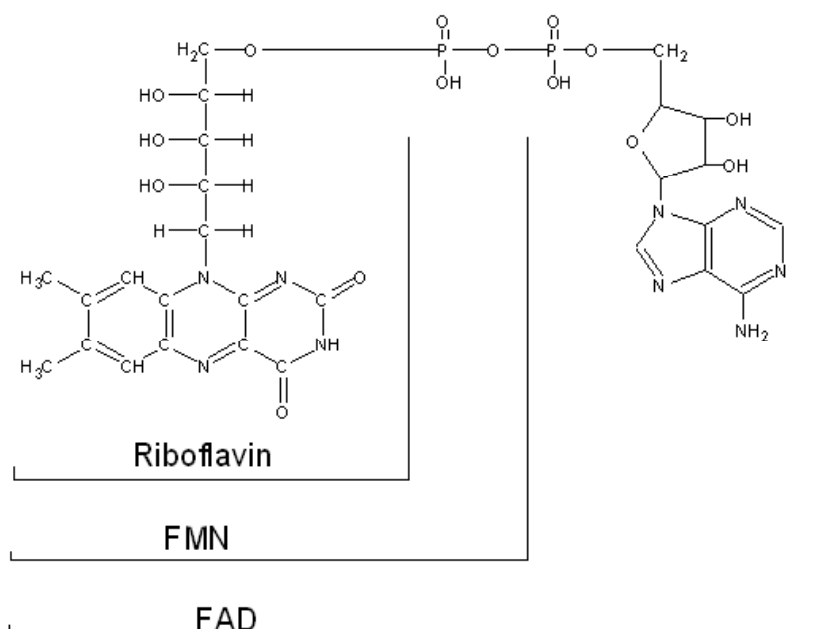


図6.1 リボフラビン, FMN, FADの構造式⁴⁾

6・2 食品に含まれるビタミンB₂の定量法

第4章では自作蛍光光度計を試作し、ビタミン剤中のリボフラビン濃度分析を行うと共にその教材化について論じたが、この装置には次の2点が課題として残った。①蛍光強度の測定に光電池の起電圧を用いたためにリボフラビン濃度と測定値が直線関係とはならず、検量線の作成に当たって煩雑な測定値の換算が必要である。②フィルター未使用の条件で一般の食品を分析するときには共存物質の影響が考えられる。

今回はそれらの問題点を改善し、教材としての実用性をより高めるため、次の改良を施した。①蛍光強度に対し直線的变化を示す光電池の電流値を測定に用いる。②光電池に適切なフィルターを付けることで、分析対象の蛍光物質のみを選択的に測定できるようにする。以上の改良のもとで食品中に含まれるリボフラビンの定量を試みた。分析値の妥当性を検討するため、分光蛍光光度計（日本分光FP-6200）でも測定を行い、両者間で比較・検討を行った。

6・3 自作蛍光光度計の改良

装置本体の基本設計は図5・5と同様である。光源にはLED（直径5mm）、受光部には多結晶型シリコン光電池（KYOHRITU, 60×30mm, $V_{oc}=1.2$ V, $I_{sc}=170$ mA）を用い、セルには学校現場で普及しているパイレックス製試験管（外径18mm, 内径15.8mm）を用いた。組み立ての詳細については前章で述べたのでここでは省略するが、本実験に当たって変更した点は以下の2点である。

① 蛍光強度Fの計測に光電池の出力電流を用いたこと

前章では光電池にDMM（デジタルマルチメーター）を直接接続し、起電力の測定によってFを求めた。装置が簡便になるという利点はあったが、光電池の起電力は入射光強度の対数的変化に比例するため、リボフラビン濃度と起電力の関係は直線に近似できない欠点があった。

一般に入射光強度と光電池の短絡電流との間には直線的な関係が成立し、5・4(2)式より希薄溶液においてはリボフラビン濃度と電流値の間では検量線の作成が期待できる。しかしながらこの場合、電流値は微弱なため、直接DMMでは測定することはできない。そこ

で本実験では図 6・2 に示す OP アンプ (NJM2119D JRC, 単電源+4 ~ +36 V) を使用した増幅回路を組み込み, 微弱な電流を電圧に増幅変換して測定することとした。たとえば, 抵抗値 430 k Ω の場合, 1 μ A は 430 mV として出力される。

② B P フィルターを用いたこと

前報ではビタミン剤中のリボフラビン濃度の定量を試みた。共存物質の影響の少ない試料での分析であったため, 測定値に影響を与える因子として光源 (395 nm, 430 nm) からの散乱光のみを考慮し S C フィルター (FUJIFILM SC46, 460 nm 以下を遮断するフィルター) の有無での比較検討を行った。

今回, 食品の分析に当たって, 様々な共存物質からの影響が考えられるため, S C フィルター (FUJIFILM SC46), B P フィルター (FUJIFILM BPB53, 530 nm のみを透過するフィルター) 及びフィルターを使用しない 3 条件で測定し比較検討を行った。

ただし, B P フィルターは透過光量が非常に少なくなるため, 増幅率は他の 2 条件より大きくする必要があり, 電流・電圧変換回路の抵抗値を 430 k Ω に設定した。一方, 他の 2 条件での抵抗は 100 k Ω に設定した。

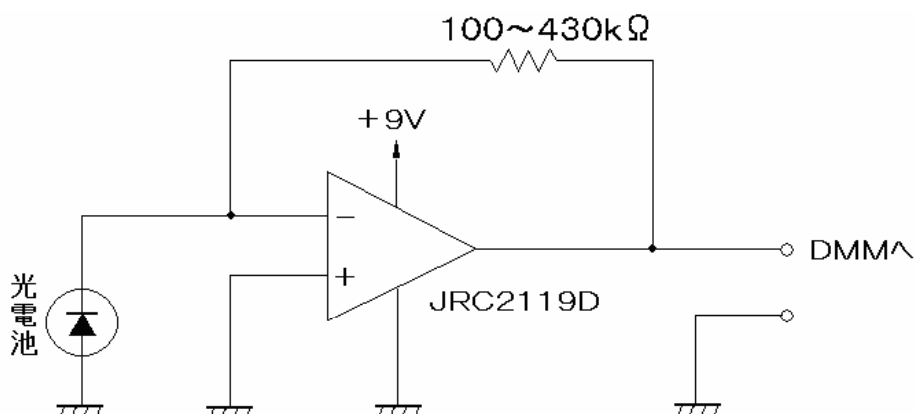


図 6・2 電流-電圧変換回路

6・4 検量線の作成

リボフラビン標準溶液を用いて、以下のように検量線を作成した。

6・4・1 試薬

酢酸緩衝液(pH 4.5):水 1 Lに 50%酢酸 10 mLと 4 mol/L 酢酸ナトリウム溶液 20 mLを加える。

リボフラビン標準原液:リボフラビン 50 mgを正確に秤量し、酢酸 4 mLを加え、水で定容して 1 Lとする。

リボフラビン標準溶液:リボフラビン標準原液を酢酸緩衝液 (pH 4.5) で希釈して、0.2 ~ 1.0ppm の標準溶液を 0.2ppm 間隔で作成する。

6・4・2 測定条件

20 mL の 0.2 ~ 1.0ppm リボフラビン標準溶液の入った試験管 5 本と酢酸緩衝液のみを入れた試験管を用意する。

五訂日本食品標準成分表分析マニュアル⁶²⁾によると、リボフラビンの蛍光測定では励起波長 445 nm, 蛍光波長 530 nm が条件となっており、それに近いものとして光源には青色 LED (STRONG BASE ELECTRONIC 製, 51B3SCB08,430 nm,3.7 V) を、光電池を覆うフィルターには B P フィルター (FUJIFILTER BPB 53) あるいは S C フィルター (FUJIFILTER SC 46) を使用する。

6・4・3 測定方法

- ①装置の LED を点灯させ、光電池の出力が安定するのを確認する。
- ② 0ppm から順に濃度の異なった溶液の試験管を装置に挿入し DMM で電圧値を測定する。一通り終われば次は濃度の高い方から順に測定する。
- ③もう一度 0ppm から測定し、合計 3 回の測定値の平均を算出する。

6・4・4 結果と考察

各濃度の 3 回ずつの測定値はいずれも 2 mV の幅 (2 %以内) に収まり、安定した結果を得た。図 6・3 に示したとおり、B P フィルター使用、S C フィルター使用及びフィルター未使用の条件いずれも高い直線性を示し、検量線として使用することが可能である。前報ではリボフラビン濃度と DMM の電圧値との間に直線関係は得られず、電圧値を換算する必要が生じたが、電流・電圧変換回路を用いることでこの課題は解決できることが

示された。

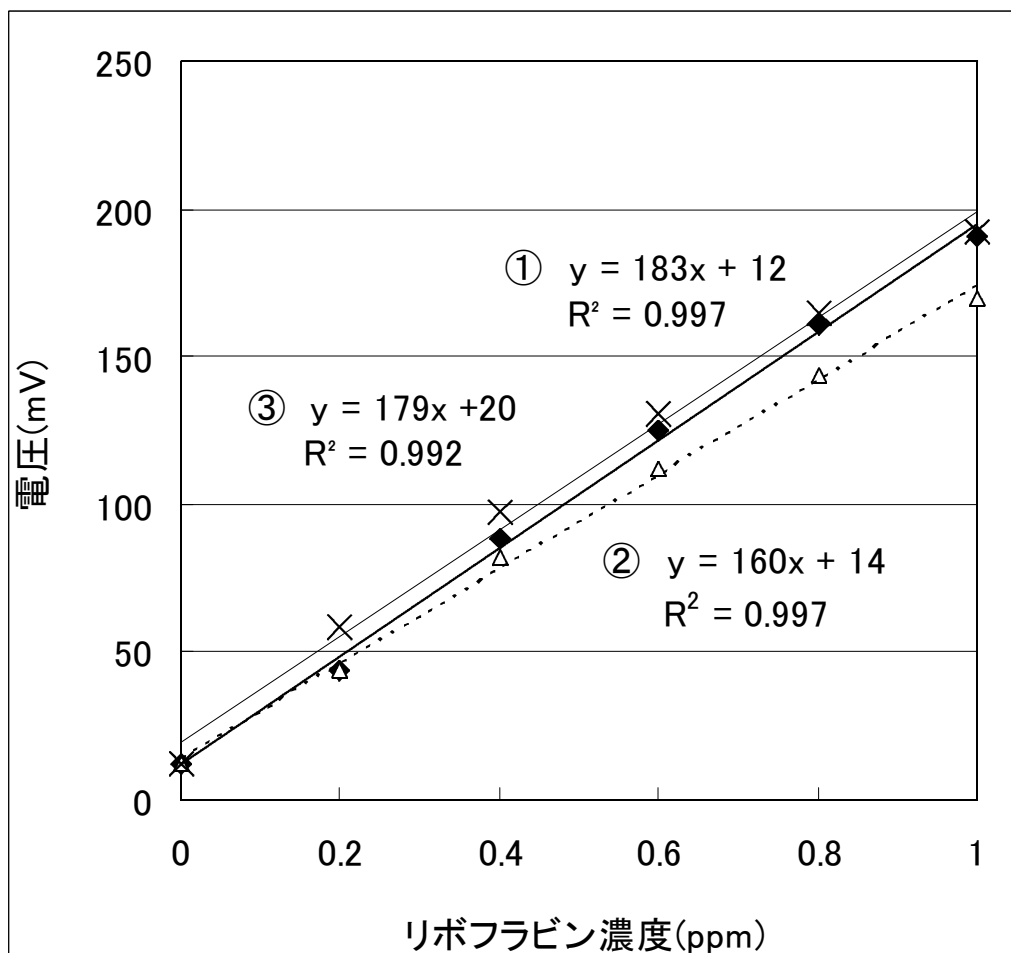


図 6・3 リボフラビン濃度と光電池出力の関係

- ◆①BPフィルター使用 △②SCフィルター使用
- ×③フィルター未使用

6・5 試料溶液の作成

五訂日本食品標準成分表分析マニュアルに従い、分析用試料溶液を作成する。

6・5・1 試薬

2.5 % (W/W) タカジアスターゼ B 溶液：タカジアスターゼ B（三共）を酢酸緩衝液（pH 4.5）に溶解し、濾過したものを用いる。

4 mol/L 酢酸ナトリウム溶液：酢酸ナトリウム三水和物 544 g に水 1 L を加える。

酢酸緩衝液(pH 4.5)：水 1 L に 50%酢酸 10 mL と 4 mol/L 酢酸ナトリウム溶液 20 mL を加える。

6・5・2 作成方法

- ①試料を乳鉢でよくすりつぶし粉末とする。
- ②試料約 3 g を正確に秤量する。
- ③ 0.1 mol/L 塩酸 50 mL を加え、沸騰水浴中で 30 分加熱抽出する。
- ④冷却後、4 mol/L 酢酸ナトリウム溶液を加え、pH 4.5 に調節する。
- ⑤ 2.5%タカジアスターゼ B 溶液 5 ml 加え、37 ~ 40 °C の恒温器中で 16 ~ 17 時間酵素による分解を行う。
- ⑥酢酸緩衝液(pH 4.5)で 100 mL に定容する。
- ⑦ろ過する。(ADVANTECNo.1 で前処理濾過の後、メンブレンフィルター 0.2 μ m でろ過する)

6・6 食品中のリボフラビン含量

6・6・1 測定試料

リボフラビンを豊富に含む食品として、成分表示のある以下の 5 品目を選んだ。そのうち 3 点は成分表示としてリボフラビン含量の記載がある。

- (ア)スキムミルク (ユナイティドフーズ)
- (イ)コーンフレーク (イオン (株), TOPVALU)
- (ウ)生牛肝臓
- (エ)干し椎茸
- (オ)栄養ドリンク剤 (エスエス製薬, エスカップ)⁶³⁾

(ア)~(エ)についてはそれぞれ 10 箇所からサンプリングし、そのうちの 5 検体については 5・4 に従い試料溶液を作成する。残りの 5 検体についてはタカジアスターゼ B の有効性を確認するため、タカジアスターゼ B 無添加で試料溶液を作成する⁶⁴⁾。(オ)は酢酸緩衝液(pH 4.5)で 100 倍に希釈したものをそのまま試料溶液とする。

6・6・2 測定方法

測定条件は以下の 3 条件でおこない、結果を比較する。

- ① BP フィルター使用
- ② SC フィルター使用
- ③ フィルター未使用

①②③それぞれの条件下，0ppm ～ 1.0ppm のリボフラビン標準溶液と(ア)～(エ)の試料溶液の蛍光強度を順番に測定する。3回測定し平均値で検量線を求め，それに各試料の平均値を当てはめて各試料のリボフラビン濃度を求める。

6・6・3 結果および考察

測定結果を表 6・1 に示す。栄養ドリンク剤では，3 条件いずれも成分表示に近い値が得られ，大きな差はみられなかった。この試料では含有成分が限られており，共存物質の影響が少ないためと考えられる。肉眼においても試料溶液の色は標準溶液とほぼ同じ色調である。

スキムミルク，コーンフレーク，生牛肝臓については，BP フィルターを使用したものが他の2条件よりも測定値のばらつきが小さく安定した結果が得られた。ただし分光蛍光光度計の測定値との比較については，図 6・4 に示すとおり，タカジアスターゼBを使用した場合には簡易蛍光光度計の測定値は 9.6 %～ 21.9 %低い値を示している。タカジアスターゼB未添加においては簡易蛍光光度計の測定値は分光蛍光光度計測定値の-10.8 ～+2.4 %の範囲に収まった。

タカジアスターゼB添加において負の誤差が得られる理由としてはタカジアスターゼB自身もつ吸光特性が考えられる。黄色の色調から 430 nm の励起光を吸収し蛍光強度を低下させていることも考えられるため，リボフラビン標準溶液に試料と同濃度のタカジアスターゼBを添加し，再度検量線を作成した。結果は図 6・5 に示した通りで予想通り蛍光強度は低下していることがわかる。この検量線に当てはめて各試料を測定し直した結果が表 6・2 と図 6・6 である。椎茸を除いて分光蛍光光度計測定値とよく一致していることが読み取れる。椎茸においてはフィルターの条件に関してはBP フィルターを使用したものがやはり一番安定した測定値を示したが，分光蛍光光度計との比較においてはタカジアスターゼBの有無にかかわらず低い値を示している。椎茸の試料溶液は他のものと比較して明らかに黄色味がかっており，この共存する色素が蛍光を妨害していることも考えられるが理由は明確ではない。

表 6・1 食品中のリボフラビン含有量(100 g 当たり)

タカジアスターゼB添加			
食品	簡易蛍光光度計の測定値		
	B Pフィルター	S Cフィルター	フィルターなし
(ア) スkimミルク	1.69 mg (0.02)	1.80 mg (0.08)	2.13 mg (0.25)
(イ) ヨーンフレーク	1.89 mg (0.23)	1.98 mg (0.24)	2.11 mg (0.22)
(ウ) 牛肝臓	2.66 mg (0.04)	2.75 mg (0.06)	2.78 mg (0.07)
(エ) 干し椎茸	1.04 mg (0.02)	1.02 mg (0.03)	1.13 mg (0.07)

タカジアスターゼB未添加			
食品	簡易蛍光光度計の測定値		
	B Pフィルター	S Cフィルター	フィルターなし
(ア) スkimミルク	1.73 mg (0.02)	2.98 mg (0.19)	6.36 mg (0.64)
(イ) ヨーンフレーク	1.98 mg (0.07)	2.93 mg (0.11)	5.76 mg (0.43)
(ウ) 牛肝臓	2.58 mg (0.06)	2.92 mg (0.09)	5.29 mg (0.26)
(エ) 干し椎茸	1.31 mg (0.09)	1.50 mg (0.13)	3.91 mg (0.17)
(エ) 栄養ドリンク剤	5.45 mg	5.43 mg	5.33 mg

測定値は栄養ドリンクを除き、5 試料の平均値。栄養ドリンクは 1 試料のみ。

() の値は標準偏差。 栄養ドリンク剤の*は成分表示値

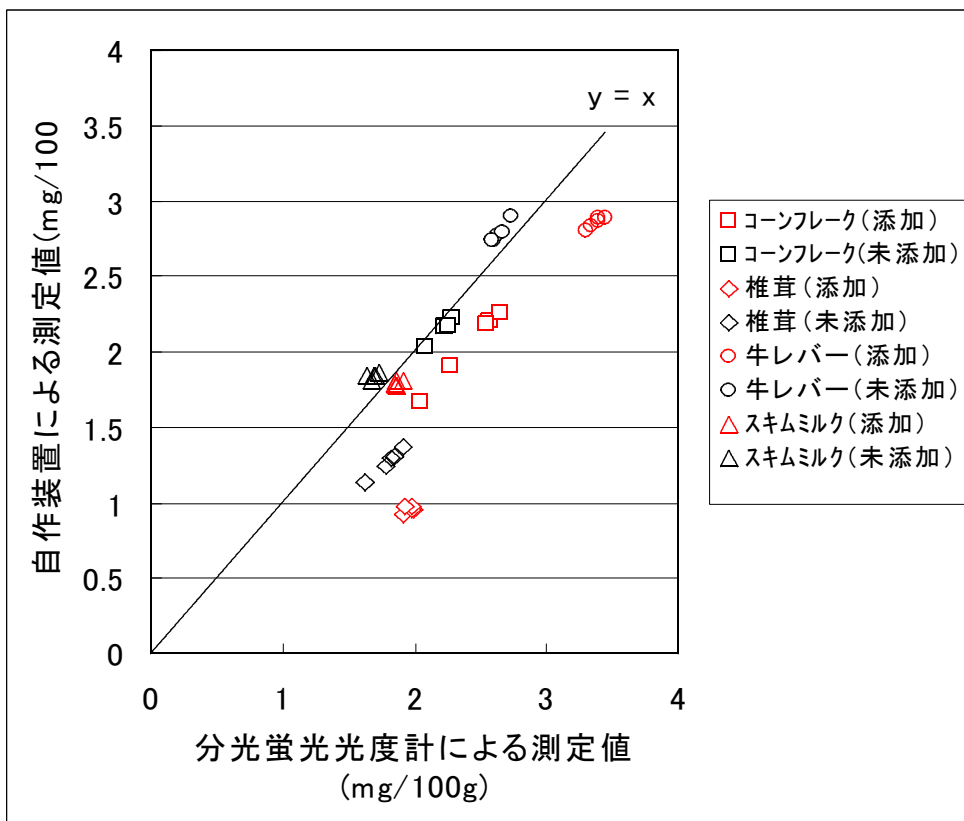


図6.4 試料分析結果の簡易装置と分光蛍光光度計の相関図

自作装置の測定条件：BP フィルター使用, LED 430 nm

分光蛍光光度計 (日本分光 FP-6200) の測定条件：励起光 430 nm, 蛍光 525 nm

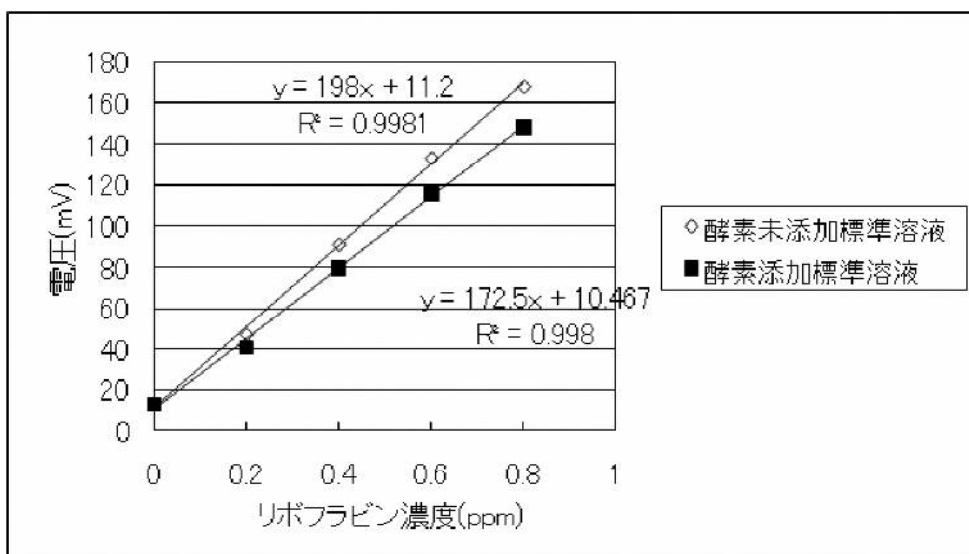


図6.5 タカジアスターゼBを添加した場合の検量線の変化

表 6・2 タカジアスターゼ B 添加条件における補正後の値 (ゴシック)

	簡易蛍光光度計の測定値	分光蛍光光度計の測定値	(参考) 成分表示値
スキムミルク	2.06 mg (0.02)	1.87 mg (0.03)	1.6 mg
コーンフレーク	2.35 mg (0.29)	2.42 mg (0.26)	1.58 mg
牛肝臓	3.28 mg (0.04)	3.38 mg (0.06)	3.00 mg
干し椎茸	1.10 mg (0.02)	1.96 mg (0.03)	1.40 mg

* 成分表示値はスキムミルクとコーンフレークは包装紙に明示された値, 牛肝臓と干し椎茸は五訂日本食品標準成分表からの抜粋。

* 自作装置の測定条件: BP フィルター使用, LED 430 nm

* 分光蛍光光度計 (日本分光 FP-6200) の測定条件: 励起光 430 nm, 蛍光 525 nm

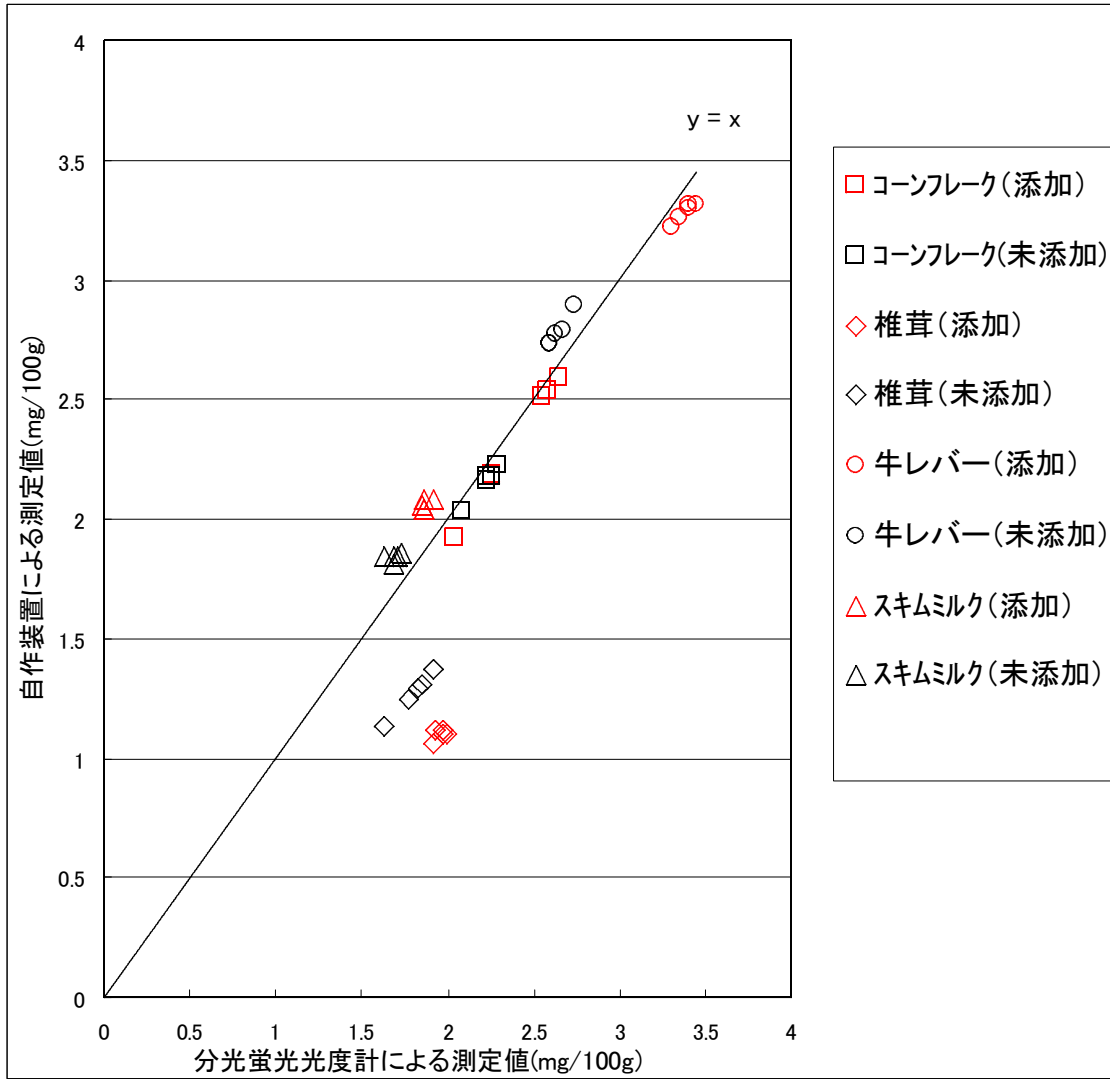


図 6・6 試料分析結果の簡易装置と分光蛍光光度計の相関図

自作装置の測定条件：BP フィルター使用, LED 430 nm

分光蛍光光度計（日本分光 FP-6200）の測定条件：励起光 430 nm, 蛍光 525 nm

(タカジアスターゼB添加の試料については図 6・5 の検量線によって補正したもの)

6・7 試料の蛍光スペクトル

図6・7～6・12に各試料の蛍光スペクトルを示した。いずれも525 nm付近に最大強度をもち、ビタミンB₂のスペクトルと考えられるが、タカジアスターゼB添加の条件でいずれも蛍光強度は高くなっており、これは食品に含有されるフラビンモノヌクレオチド (FMN) やフラビンアデニンジヌクレオチド (FAD) が酵素の働きによってリボフラビンに変換した結果と考えることができる。酵素添加の有無における差はスキムミルクで10.7%、コーンフレーク 9.0%、牛肝臓 28.0%、椎茸 8.9% (いずれも分光光度計値での比較) の増加となっており、牛肝臓ではその差は大きく、食品によってFMNやFAD含有量に違いがあることが示唆される。

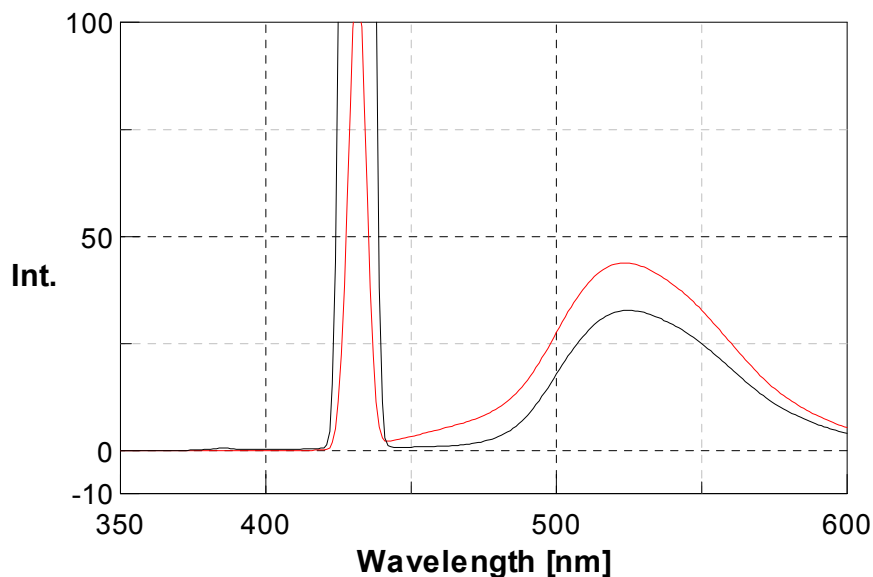


図6・7 スキムミルク (赤：酵素添加 黒：酵素未添加)

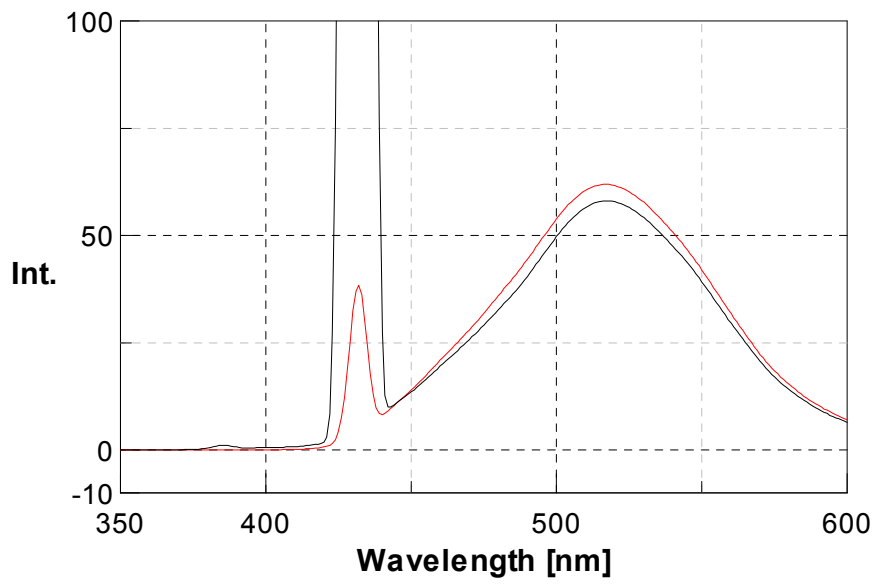


図 6・8 インスタント麺 (赤：酵素添加 黒：酵素未添加)

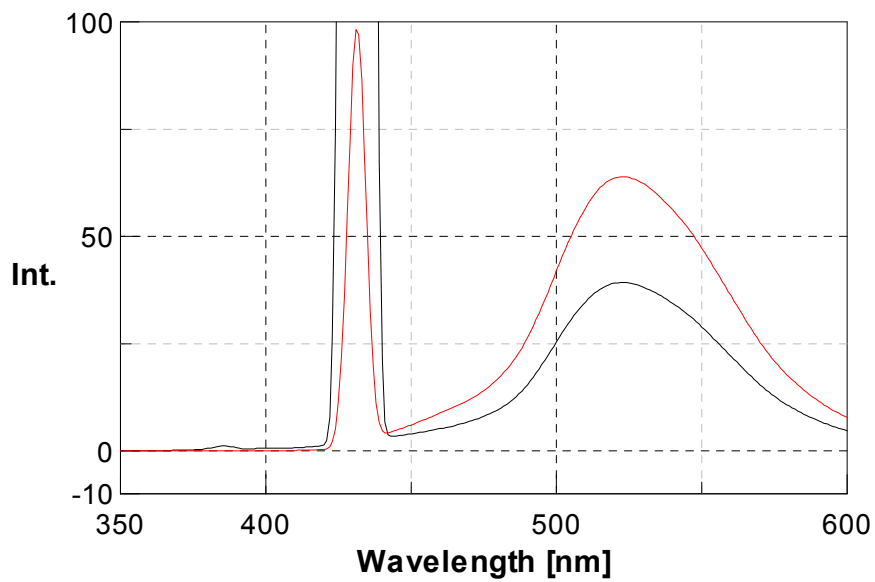


図 6・9 コーンフレーク (赤：酵素添加 黒：酵素未添加)

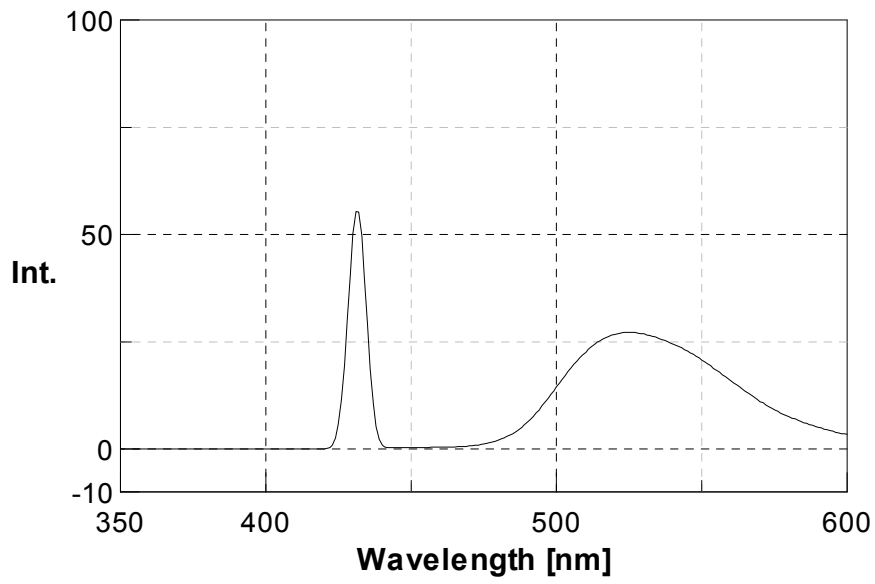


図 6・10 栄養ドリンク剤

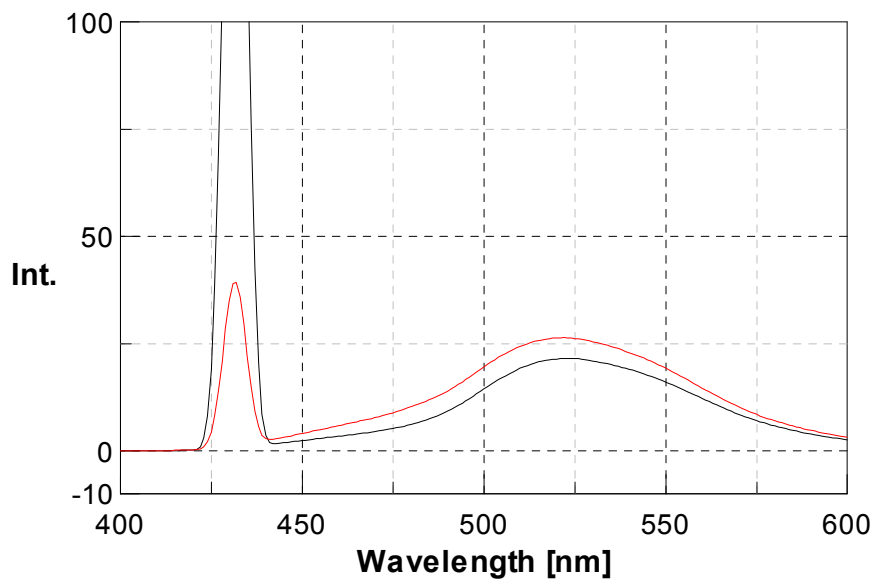


図 6・11 椎茸 (赤：酵素添加 黒：酵素未添加)

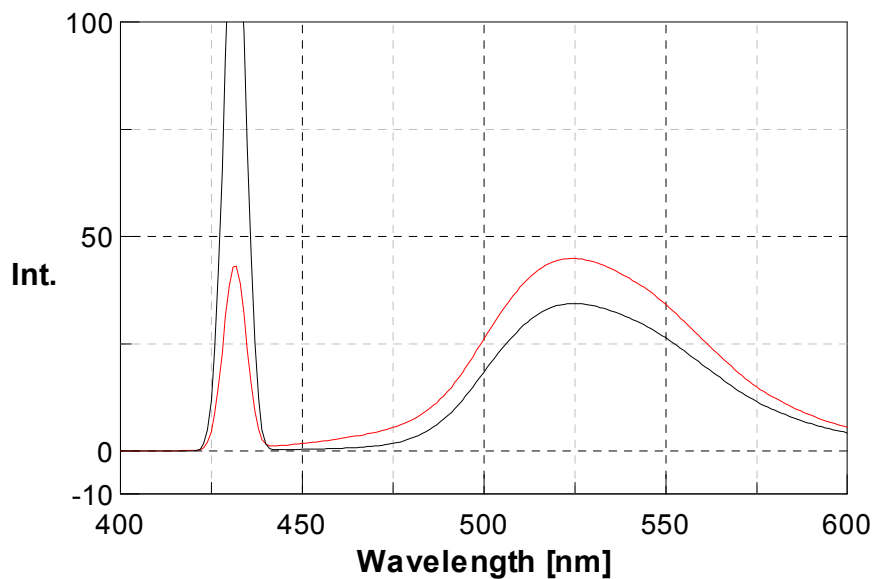


図 6・12 牛レバー（赤：酵素添加 黒：酵素未添加）

6・8 まとめ

以上の分析結果を以下にまとめる。

- ①この簡易蛍光光度計を用いた測定条件はB Pフィルターを使用した場合が一番安定した値を示した。
- ②タカジアスターゼBを使用する場合は標準溶液にも試料溶液と同濃度のタカジアスターゼBを添加する必要がある。
- ③タカジアスターゼBを添加した場合はいずれも高い値を示すがその差は食品によって異なる。これはFMNやFADの含有量の差と考えることができる。
- ④この簡易蛍光光度計を用いた分析法は分光蛍光光度計と比較して十分に教材として使用できる精度を備えているが、色の濃い試料に関しては誤差が大きくなり使用においては注意が必要である。

第7章 自作蛍光光度計による錠剤中のアセチルサリチル酸 (ASA) の定量

7-1 教材としてのアセチルサリチル酸 (ASA) の定量分析

本章では蛍光分析の対象としてアセチルサリチル酸 (ASA, アスピリン) を取り上げた。高校の化学において, ASA は, サリチル酸 (SA) と共に必修の化合物である。日本薬局方アスピリンの定量法によればアスピリンを過量の水酸化ナトリウム (NaOH) で加水分解し, 残りの NaOH を中和滴定する逆滴定法を用いており⁶⁵⁾, 様々な定量分析の実習書でも紹介されている⁶⁶⁾⁶⁷⁾ 大変興味ある物質である。

教育現場で自作装置を用いる優位点と期待される教育効果には次の3点が考えられる。

1) 高価な装置が前提となる微量分析を学校現場で容易に実施できる。2) 装置の内部がブラックボックス化することを防ぎ, 生徒の測定原理の理解が進む。3) 分析作業のすべてに関わることで結果に対する十分な考察が生まれ, 科学技術力を培い科学的に探究する能力を育てる。

本章では, 第5, 6章で使用した自作蛍光光度計を改良し, ①光源を対象化学種の励起波長に合わせて LED からブラックライトにしたこと, ②受光素子に光電池ではなくフォトダイオードを用いた自作蛍光光度計を開発した。次に ASA の滴定法による定量と ASA の蛍光特性を利用した自作の簡易蛍光光度計を用いた定量の基礎実験を試み, 蛍光光度法が滴定法と同等の良好な結果を示すことを確認した。授業実践でのアンケート調査からは, 両分析法の特徴と実験原理・精度及び実験データの比較・考察したことにより, 実験者である生徒に, 定量の概念に対する理解を促す学習効果を支持する結果が得られた。以上の基礎実験と授業実践から得られた知見を基に課題研究のための合計7時間の実験計画を提案する。

7-2 滴定法による ASA の定量

7-2-1 原理

中和滴定法を用いて ASA を定量する場合, ASA に一定過量の NaOH を加えてすべてサリチル酸ナトリウムに加水分解させた後, 残った NaOH を塩酸 (HCl) で滴定する逆滴定法を用いる。ただし, NaOH を加水分解する際の煮沸や冷却の過程で空気中の CO₂ が一

部の NaOH を Na₂CO₃ に変化させることが予想される。このため、空試験による補正が必要となる。

ASA の加水分解では図 7・1 のように ASA 1 mol に対し NaOH 2 mol が反応することから、0.1 mol/L NaOH 50 mL に ASA を加えて加水分解し、残りの NaOH を 0.1 mol/L HCl で中和滴定したとき、ASA の質量 w(g) は次式で示される。

$$w = \frac{0.1 \times f_{\text{HCl}} \times (B - A)}{2 \times 1000} \times 180.16$$

ただし、 f_{HCl} は HCl のファクター、A は試料溶液の HCl の滴下量(mL)、B は空試験での HCl の滴下量(mL)、ASA の分子量は 180.16 である。

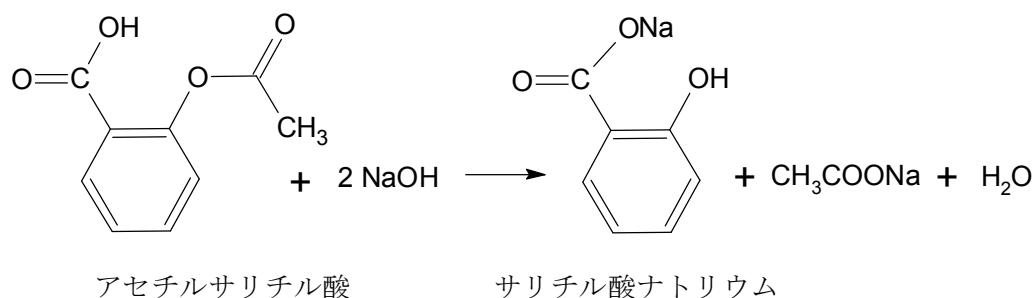


図 7・1 ASA の加水分解反応

7・2・2 準備

(a) 0.1 mol/L 塩酸標準液の調整と標定

調整法 濃塩酸 9 mL をメスシリンダーで量り取り、メスフラスコ中で蒸留水を加えて 1 L とし、活栓をしてよく振る。

標定法 110 °C で 1 時間乾燥した無水炭酸ナトリウム (標準試薬) 0.15 g を精密に量り取り、蒸留水 30 mL をメスシリンダーで量り取り、コニカルビーカーに加えて溶解する。

指示薬のメチルオレンジを 5 滴加えた後、ビュレットにより調整した 0.1 mol/L 塩酸水溶液で滴定し、次の式からファクター f_{HCl} を計算する。

$$f_{\text{HCl}} = \frac{\text{無水炭酸ナトリウム (mg)}}{5.299 \times \text{HCl 滴下量 (mL)}}$$

(b) 0.1 mol/L NaOH 水溶液の調整

水酸化ナトリウム 4.0 g を量り取り、メスフラスコ中で蒸留水を加えて 1000 mL とし、活栓をしてよく振り混ぜる。

7・2・3 実験方法

アスピリン錠剤（バファリン A, ライオン(株)）一錠の質量を有効数字 3 桁まで量る。次に錠剤を乳鉢で粉碎した粉末 0.3 g を有効数字 3 桁まで量り取り、25 mL ビーカーに入れた後、エタノール 10 mL を加えガラス棒でよく攪拌する。自然ろ過により得たる液を 25 mL のメスフラスコに入れる。再度ビーカー内の残留物に 50 °C の水浴で温めたエタノール 5 mL を加えて洗浄し、自然ろ過で得たる液をメスフラスコに入れ、不足分のエタノールを加え標線に合わせる。メスフラスコ内の溶液をコニカルビーカーに入れ、ホールピペットにより 0.1 mol/L 水酸化ナトリウム 50 mL を加え、10 分間穏やかに煮沸する。室温まで放冷後、直ちにフェノールフタレイン試薬 5 滴を加え、過量の水酸化ナトリウム水溶液を評定した 0.1 mol/L 塩酸水溶液でビュレットを用いて滴定する。同様の方法で空試験を行う。

7・2・4 結果

表 7・1 に示す滴定法による定量結果の平均検出率は 90.9% の値を示したことから、ASA の効率良い抽出及び共存物質の除去を考慮したろ過の効果が考えられる。一方、標品 ASA による同様の分析をおこなったところ平均検出率は 97.9% の値を示したことから、アスピリン錠剤含有の無機物などの共存物質による抽出阻害が検出率降下の原因と推察される。

表 7・1 滴定法による ASA の定量結果

アスピリン錠剤	ASA (mg/一錠)	検出率 (%) *
a	295	89.3
b	303	91.8
c	299	90.6
d	299	90.6
e	305	92.4
平均	300 (3.49) **	90.9

*1錠約490 mg中のASA330 mgの成分表示を基準とした。**()は標準偏差

7.3 蛍光光度法によるASAの定量

7.3.1 SAの分析原理

SAは蛍光物質としてよく知られる化合物で市販のブラックライトのもとで青色蛍光を発する。図7.2に 10^{-2} mol/L NaOHに溶かしたSAの励起スペクトルと蛍光スペクトルを示す。SAの励起波長は320 nm、蛍光波長は410 nmである。今回はアスピリン剤中のASAをNaOH水溶液中で完全に加水分解し、生成したSAの蛍光強度から定量を試みることとした。

7.3.2 高濃度における測定の原理

入射光の強度 I_0 、蛍光物質の濃度 C 、蛍光強度 F の関係式は5.4(1)式で示した。このとき、 $C \ll 1$ の条件であれば5.4(2)の近似式が成り立ち、 F は C に比例することが示される。

ただし、この条件が成り立たない場合は以下の通りとなる。

F の測定にフォトダイオードを用いたとき、フォトダイオードの電流 A は照射光強度に対しリニアに変化するため、5.4(1)式には F の代わりに dA とおくことができる。ここで d は定数である。 $p I_0 d^{-1} = f$ とすれば、5.4(1)式は次の(1)式に置き換えることができる。

$$A = f(1 - 10^{-abC}) \quad \dots (1)$$

ここで C が十分に大きい場合、 $A = f$ となり、蛍光強度より f を求めることができる。

(1)式から(2)式が求められる。

$$\log\left(1 - \frac{A}{f}\right) = -abC \quad \dots (2)$$

(2)式で左辺と C は比例するため、両者間でグラフを作成すれば検量線として使用できる。

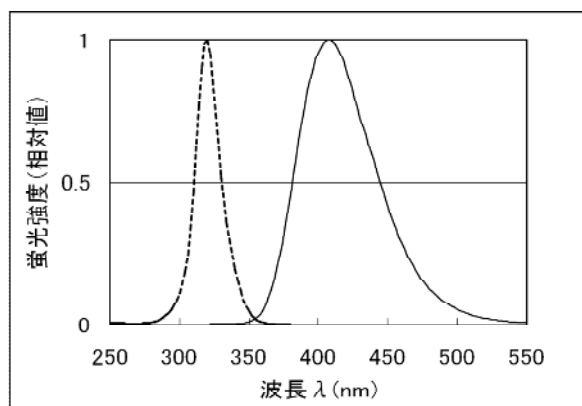


図7.2 SAの蛍光・励起スペクトル
点線：励起スペクトル，実線：蛍光スペクトル
SA： 10^{-3} mol/L，溶媒： 10^{-2} mol/L NaOH水溶液
測定機器：HITACHI F-4000

7.3.3 装置の構造

筆者らはこれまでフルオレセインやリボフラビンの定量を教材として活用するため簡易蛍光光度計を開発してきた⁶⁸⁾⁶⁹⁾。今回SAの定量をするに当たって改良した点は以下の2点である。①既報で扱ったフルオレセインやビタミンB₂では励起光は可視領域であったため光源としてLEDを使用してきたが、SAの蛍光を得るためには350 nm以下の紫外線が必要となる。このため、今回はブラックライトを光源に使用することとした。ブラックライトのピーク波長は352 nmであり、SAの励起波長320 nmと比較するとかなり長波長寄りであるが発光領域は300~420 nmと広くSAの励起光源として使用が可能である。②それでもブラックライトの光は励起光としては波長が長く蛍光も弱くなる。このため、受光部には光電池に替えてフォトダイオードを使用することとした。ブラックライトは点灯中熱をもつので周りを囲うことはせず、それゆえ外部光の影響を極力減らすため、測定する部屋は暗幕を引いて暗くする⁷⁰⁾。

基本構造を図7.3に、装置の全体図を図7.4に示す。本体にはポリ塩化ビニル製パイプ（内径20 mm，長さ165mm）を使用し，下端にはゴム製クッションパット（GCP-10B，WAKI SANGYO）をはめ込む。クッションパットの穴の直径は5 mmから7 mmに拡張する。上からは試料溶液を入れた試験管（パイレックス製，外径18 mm）をはめ込む。本体はスタンドに固定し，クッションパットから15 mmの位置に光源として，ブラックライト（TOSHIBA EFD15BLB，ピーク波長352 nm，紫外線出力1.8 W，交流100 V）を固定する。ブラックライトからの紫外光はクッションパットの穴から入射し，試験管中の蛍光物質を励起する。発生した蛍光は本体下部側面に開けた直径5 mmの穴より出てフォトダイオード（HAMAMATSU S7183，50%感度波長450~850 nm）を照射する。フォトダイオードで生じた電流は図7.5に示した回路により電圧値として増幅されデジタルマルチメーター（DMM）によって読み取られる。フォトダイオードには光源からの反射光，散乱光を遮断するため，SCフィルター（FUJIFILM SC39，390 nm以下をカット）を被せる。

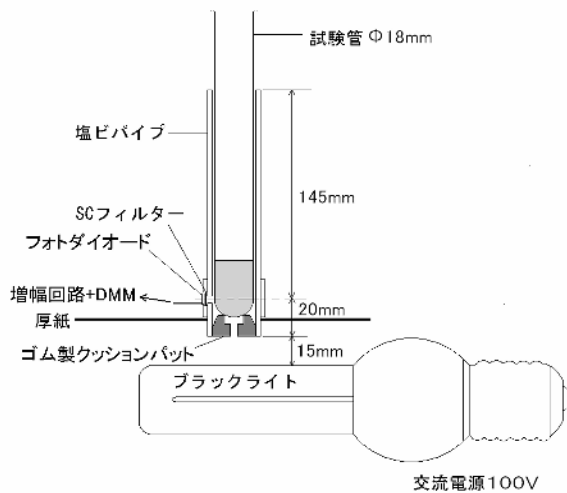


図 7・3 装置の基本構造

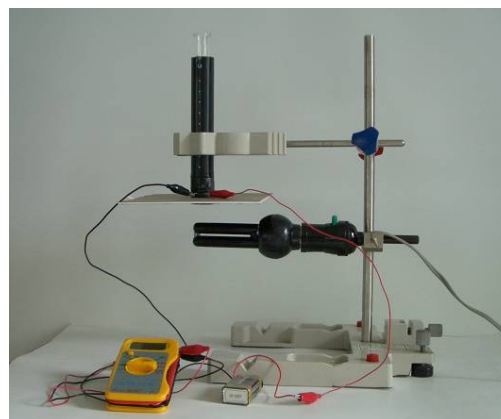


図 7・4 装置概観

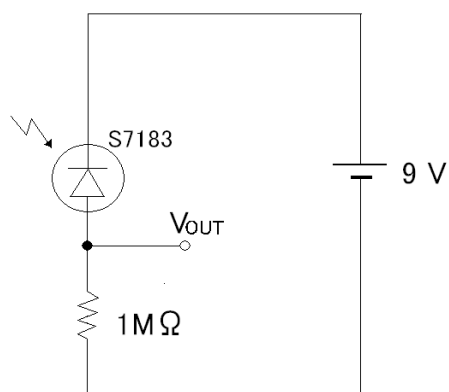


図7・5 電流-電圧変換回路

7-3-4 SAの検量線

一般に蛍光物質の蛍光強度はpHに依存するため、蛍光分析にあたっては、溶媒であるNaOH水溶液の濃度条件を決定する必要がある。そこで異なるNaOH濃度条件のもとで検量線を作成し、適正条件を探ることとした。

(a) 標準溶液の作成

SA 1.381 gを0.01 mol/L NaOH水溶液に溶かして1000 mLとし、SA 1.00×10^{-2} mol/Lとする。この溶液をさらに0.01 mol/L NaOH水溶液で希釈して 1.00×10^{-4} mol/L間隔で0.00～ 5.00×10^{-4} mol/Lまでの標準溶液を作成する。0.050 mol/L NaOH水溶液と0.100 mol/L

NaOH水溶液条件でも同様に標準溶液を作成する。

(b)測定方法

自作蛍光光度計の電源を入れ、光源が安定するまで30分以上放置する。測定は各標準溶液3回ずつ行い、平均値から検量線を作成する。なお、(2)式の f を求めるため、高濃度 SA 溶液として 1.00×10^{-2} mol/L までの測定も行う。

(c)結果

結果を図7・6に示す。NaOH水溶液の濃度が高いほど感度も高くなり、この3条件の中では0.10 mol/L NaOH水溶液が検量線として使用するのに最も適していると言える。このままでも直線に近似することは可能であるが ($r^2 = 0.993$) , (3)式における f 値を求めるため高濃度領域でのSAの蛍光強度を測定した結果が図7・7である。ほぼ2700 mVで飽和するため、 $f = 2700$ mVとして縦軸に $-\log(1 - A/f)$ をとったグラフが図7・8である。さらに直線性が向上し($r^2 = 0.998$) , 良好な検量線として使用することが可能である。

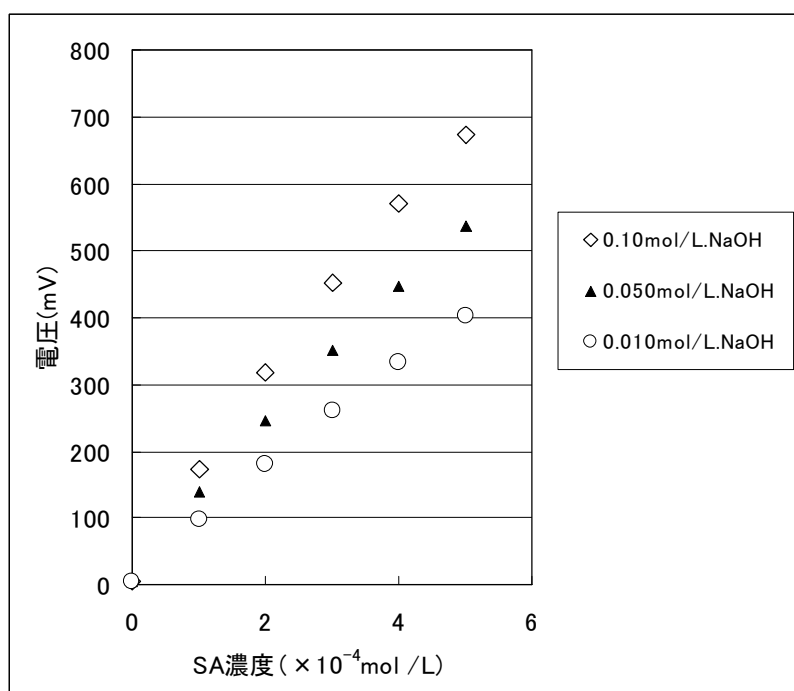


図7・6 SA濃度と蛍光強度の関係

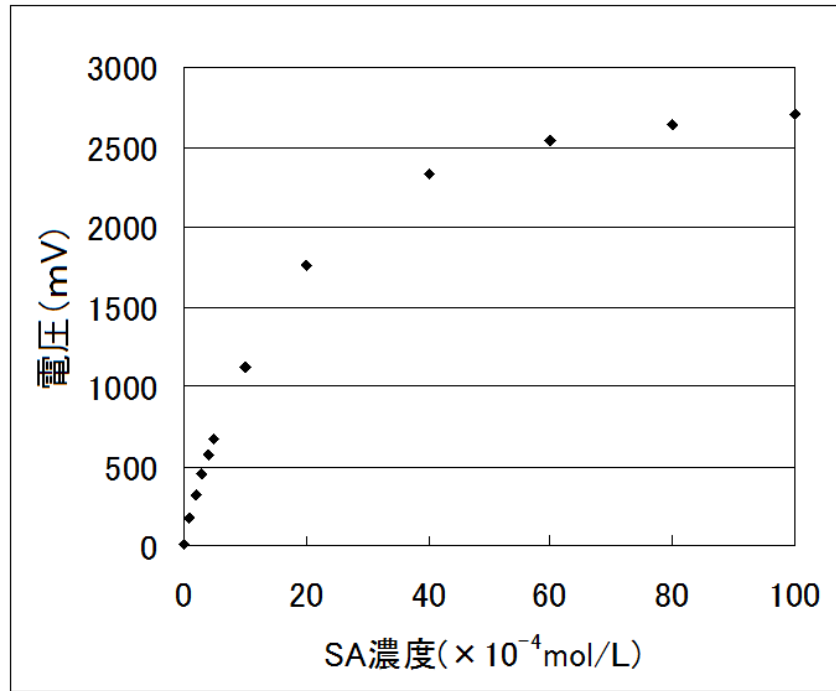


図7.7 SA濃度と蛍光強度の関係（高濃度領域）

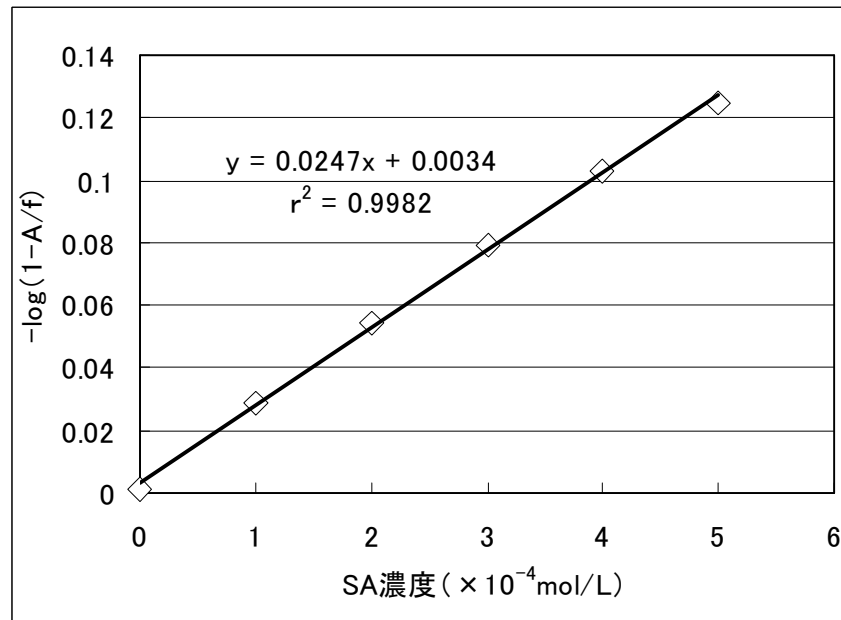


図7.8 SA濃度と $-\log(1-A/f)$ の関係

7・3・5 アスピリン錠剤の定量分析

(a) 実験方法

試料の作成：乳鉢で粉末化したバファリン錠剤0.3 gをエタノールで溶解し自然ろ過した後、0.1 mol/L水酸化ナトリウム水溶液50 mLに加え、10分間煮沸、冷却するまでは滴定法における試料作成と同様である。冷却した溶液は100 mLメスフラスコに移し、0.1 mol/L水酸化ナトリウム水溶液を加えて100 mLとする。この水溶液5 mLを250 mLメスフラスコに移し0.1 mol/L水酸化ナトリウム水溶液を加えて250 mLとする。20 mLをメンブランフィルター（ADVANTEC DISMIC-25CS）でろ過し、蛍光測定用試験管に入れる。アスピリン錠剤5錠から5検体を作成する。

測定法：簡易蛍光光度計を点灯させて30分置き、光源が安定するのを待つ。標準溶液（溶媒0.1 mol/L水酸化ナトリウム水溶液）とアスピリン試料を順次測定する。各試料3回測定し、平均をとる。

(b) 実験結果

表7・2に示す蛍光光度法による定量結果は、滴定法と比較して殆ど差はなく、良好な測定結果を得た。

蛍光光度法は正確に希釈しながら標準溶液を調製する実験技術が必要であるが、高校生にとってとりわけ困難な操作ではない。時間の制約のなかでは、あらかじめ用意しておくことも考えられるが、むしろ実験技術の向上のためには積極的に生徒に実践させることが望ましいと思える。また、その後の操作については滴定法よりも短時間かつ簡便に完了することができる。以上の結果を踏まえて本装置を用いたASAの定量分析は実験教材としての適用が可能であると考えられる。

表7・2 蛍光分析法によるASAの定量結果

アスピリン試料	ASA (mg/一錠)	検出率 (%)
f	292	88.5
g	296	89.7
h	299	90.6
i	304	92.1
j	304	92.1
平均	299 (4.65)	90.6

7.4 授業実践による実験教材の検証

7.4.1 医薬品中の ASA の定量分析

(a) 授業実践の目的

医薬品中の ASA の定量分析並びに ASA における物性の理解を目的として、実験教材としての滴定法と蛍光光度法による定量分析の精度の比較・適性を評価するため、高校 2 年生を対象とする授業実践による実験教材の検証と共に、質問紙調査を実施した。

(b) 実施内容

本実験は徳島県立城南高校 (SSH 指定校) ・応用理数科コース 2 年生 9 名を対象に 3 時間の授業を実施した。まず医薬品に含まれる ASA の定量分析実験について、滴定法及び蛍光光度法の原理・操作・方法の理論的背景における概論を講義した (20 分)。次に個別の実験形態で滴定法による ASA の定量分析実験をおこない (110 分)、続いて 2~3 名によるグループ形態で蛍光光度法による ASA の定量分析実験を実施した (50 分)。実験終了後に質問紙を配布し、実験教材の内容及び適性並びに授業実践における学習効果について検討した。今回の実験では授業時間が限られていることも考慮し、基礎実験の改良点として実験方法 7.2.3 (滴定法) 及び 7.3.5 (蛍光光度法) については以下の内容に変更した。

(1) 滴定法

- ① アスピリン錠剤一錠全てを粉末化し実験に用いた。
- ② 塩酸の代わりに硫酸 0.25 mol/L, NaOH 水溶液の濃度は 0.5 mol/L とする標定済みの実験試薬を使用した。
- ③ 抽出及びろ過における効率を高めるためにメンブランフィルターと注射器を使用した。

(2) 蛍光光度法

- ① 完成済みの測定装置を使用した。
- ② 検量線作成用の調製済み標準溶液を用いた。
- ③ 検量線の作成に当たり、対数計算には PC を用いた。

(c) 実験結果と質問紙調査

表 7.3 は滴定法と蛍光光度法の定量分析における生徒による測定結果を示している。滴定法については、全員が初めて逆滴定に挑戦したことを考えるとバラツキは少なく (σ

=18.0) , 表 7・1 に比較的近い安定した結果を示した。生徒の感想でも滴定法は操作が大変だとする一方で、この良好な測定結果を評価する声が多かった (6名)。

滴定法の測定値が表7・1の値よりも成分表示330 mgに近い値を示したことについてはメンブランフィルターのろ過による抽出効率の向上があると考えられる。一方、蛍光光度法の測定値は、バラツキが大きく ($\sigma=47.1$) , 生徒の感想文の中でも9名中8名がこのことを蛍光光度法の問題点として指摘している。

表 7・2 で得た標準偏差($\sigma=4.65$)が生徒の授業実践では再現できなかった点は精査する必要があるが、測定前のブラックライトの点灯時間が短いことから光源の不安定性や機器分析に必要な慎重さに欠ける操作などが考えられる。いずれも時間が不足するなか操作を急がせた点が要因と考える。また窓には暗幕はなく、ブラインドを下ろすことで対処したが、外光の影響は考えられ、この点を指摘する生徒もいた (2名)。今回は実現できなかったが、実験者である生徒が自ら装置を製作し、測定結果のバラツキの原因を考え、自作装置の改良や操作のスキルを上げる機会を与えることも教育上の重要な課題と考えている。

表 7・3 実験結果

ASA (mg/一錠)		
測定者	滴定法	蛍光法
A	320	275
B	332	
C	320	334
D	297	
E	320	357
F	317	
G	329	238
H	279	
I	343	
平均	317(18.0)	301(47.1)

表 7・4 に質問紙調査の結果を示した。限られた授業時間の中で、蛍光光度法の原理や測定装置の構造については理解度が十分ではなかったが、操作性については7名が易しいと

回答している。この点は、滴定法と比較した蛍光光度法の利点として最も多い指摘であった。

今回の授業実践は、逆滴定や蛍光光度法の概念などの発展的な内容を含んだ定量分析実験であったが、難しいと感じた生徒は少なく（2名）、ほぼ全員（8名）が楽しみながら実験授業に取り組み、今後の化学の勉強に役立つ（6名）と回答した点は、滴定法と蛍光光度法による定量分析の実験教材としての学習効果を支持するものと考えられる。

表 7・4 質問紙調査の結果

今回の実験はおもしろかったか		蛍光光度計の構造は理解できたか	
面白かった	8	よく理解できた	0
どちらともいえない	1	ほぼ理解できた	4
面白くなかった	0	少し理解できた	5
学習内容の難易度はどうだったか		理解できなかった	0
難しかった	2	蛍光光度計の操作は易しかったか	
どちらともいえない	6	易しかった	6
易しかった	1	少し易しかった	1
今後の化学の勉強に役立つと思うか		少し難しかった	2
思う	6	難しかった	0
どちらともいえない	3	蛍光光度法の実験は楽しかったか	
思わない	0	楽しかった	3
蛍光光度法の原理は理解できたか		どちらかと言えば楽しかった	6
よく理解できた	0	どちらかと言えば退屈だった	0
ほぼ理解できた	5	退屈だった	0
少し理解できた	3	実験における教え方はどうだったか	
理解できなかった	1	丁寧でわかりやすかった	9
		どちらともいえない	0
		不親切でわかりにくかった	0

7・4・2 蛍光分析法を用いた教材の授業計画

以上の授業実践の結果を踏まえ、化学を履修する生徒対象の課題研究として、以下の授業計画を作成した。化学の科目では中和滴定、エステル加水分解、サリチル酸、アセチルサリチル酸について学習する。今回の課題研究はこれらの内容の学習が終了した時期に実施することが興味・関心を高め、理解を深めるうえでも適切であると考え。

(a) 授業導入にあたっての留意点

蛍光現象は高校の化学の学習内容に含まれておらず、それ故、このテーマの導入にあたって生徒の興味・関心を惹きつけることが動機付けの上で大切である。筆者は以前、小学生向けの科学イベントにおいて身近な蛍光物質（洗剤やビタミン剤、入浴剤など）を用いて絵を描かせブラックライトで発色させる実験をおこなった。このときの児童の興味・関心は高く、蛍光現象の教材としての有効性を再認識した。導入では演示実験をすることで生徒の関心を高め、理解を進めるよう配慮することが大切と考える。励起光と蛍光の関係については、様々な波長のLEDを光源として蛍光物質に照射し、その蛍光強度を観察することで生徒の理解が容易になることが期待できる。

(b) 授業の目標

以下の6項目を目標に設定する。

- (1) 機器分析の基本となる検量線を用いた分析法を理解すること。
- (2) 装置を自ら組み立てることで、蛍光強度を測定する装置の構造を理解すること。
- (3) 実験操作に習熟すること。
- (4) 興味関心をもって実習に当たること。
- (5) 実験結果について考察が加えられること。
- (6) エステルの加水分解についての理解が深まること。

(c) 授業内容

表7・5に各時間の授業内容をまとめた。

1 時間目：生徒がこのテーマに前向きに取り組むための動機付けが重要である。そのためには分析機器による微量分析が環境調査や食の安全といった身近な問題の解明に直接的に役立っている点などを例として挙げ、定量分析の重要性を十分に説明する必要がある。

ある。また、本課題の理解と実践のためには今まで学習してきた化学の知識が必要であり、その意味で総まとめとしての意味を持つことも強調したい。蛍光現象そのものについては蛍光灯や蛍光ペンなど身近な生活用品を通して生徒は知っているがその原理については学んでおらず、先に記した様に演示実験を加えながら蛍光の特性について説明したい。ここではこの内容について、光吸収と補色の関係による物質の発色と比較しつつ「蛍光物質が光エネルギーを受け取り（励起状態）、励起状態から基底状態にもどる時に放出するエネルギーが蛍光となる」ことを説明するに留めたい。SA の蛍光特性については実際に演示しながら説明し、定量分析とは対象となる化学種の数ある特性の1つを利用していることに気づかせたい。

2 時間目：装置の構造に関しては実物を提示しながら説明する。装置の組み立てに当たって、本体となる塩ビパイプの加工はすでに済ませておき、部品を組み立てるだけで完成できる状態にしておく。

3 時間目：検量線の作成は本研究の柱となる重要な実験である。標準溶液の調整も手分けして生徒各自におこなわせたい。測定とその結果をグラフ用紙にプロットするところまで1時間でおこなう。ここでは(3)式による換算は行わず、測定値をそのままグラフ（横軸：SA 濃度、縦軸：電圧）にし、直線に乗らない点に気づかせる。実験後、作成した標準溶液は暗所にて保存し、6時間目に再度使用する。

4 時間目：蛍光強度特性から(3)式までの導入を説明した後、表計算ソフト Excel を用いて、3時間目の測定値から換算値を算出させる（ $f = 2700 \text{ mV}$ ）。Excel を用いてグラフ（横軸：SA 濃度、縦軸： $-\log(1-A/f)$ ）を作成し、直線に近似できることを確認させる。

5 時間目：ASA の加水分解についてはエステルの加水分解の内容の復習として生徒への発問を中心に授業を展開する。本分析法を理解する上で大切な内容であり、全員の理解に努めたい。

6 時間目：アスピリン錠剤の粉碎作業から始め、一班 3 検体を作成させる。標準溶液と共に蛍光光度計にて測定し、検量線からアスピリン錠剤中の ASA 濃度を算出させる。

7 時間目：レポート作成のための時間とする。単に結果の記述で終わらず、実験方法が再現可能な正確な記述で記されていること、十分な考察がなされていることに留意させる。実験の不明点についても積極的に質問させ、個別に疑問に答えたい。

(d) 授業評価

授業目標の達成度については以下の方法で評価する。

(1)(2)については事後の質問紙調査

(3)(4)については実習の様子観察と質問紙の自由記述。

(5)(6)についてはレポートの内容。

表 7・5 授業計画の内容

1 時間	課題研究のテーマと授業計画について (講義) 蛍光現象と蛍光分析, SA の蛍光特性 (講義)
2 時間	簡易蛍光装置の構造 (講義) 製作の手順について (講義) 製作と組み立て (実習)
3 時間	標準溶液の測定と検量線の作成 (実習)
4 時間	PC を用いた検量線の作成(実習)
5 時間	ASA の加水分解反応について (講義) SA の定量分析のための試料作成法 (講義)
6 時間	アスピリン錠剤の定量 (実習)
7 時間	レポートの作成

7・5 まとめ

今回実践した授業では蛍光光度法の教材としての有効性を滴定法と比較しながら検討したが、この両分析法を教材として考えるとき、その目的はそれぞれ別のところにあるといえる。すなわち、逆滴定法は化学実験の基本技術の習熟と滴定原理の理解の深化にあり、「化学」の発展的内容に位置づけることができる。一方、蛍光光度法は動機付けとして蛍光現象への興味・関心から入り、機器分析の原理や装置の構造の理解、そして分析操作へと至る一連の研究は、その広範囲な内容から課題研究や総合学習のテーマとして適当であるといえる。

高校と大学の連携事業が推進されるなか、大学の設備を高校生が利用できる機会が増え

てはきているが、それでも高価な分析機器をどの高校生も自由に使える段階にあるとは言えない。その一方、創意工夫のある実験テーマで「考える力」を育むことが求められ、従来の学校にある器具、設備では対応しきれない状況が生じている。今回紹介した蛍光光度計の部品は、すべて一般のホームセンターや電子パーツ店で手に入れることができる。加工にも特別な工具を必要としない。材料費は本体が3500円程度でこれにデジタルマルチメーターが必要になる。一番単価の高い部品はブラックライト（約3000円）である。輝度が高いことを優先したためこの製品を選択したが、直管形の蛍光灯で十分な感度が得られればより安価なものがいくつかある。

簡易分析装置を用いた実験授業は少人数クラスにおいて毎年実践しているが、いずれも検量線を用いた分析法の理解については事後の質問紙調査から良好な回答を得ている。今回報告した蛍光分析法は芳香族化合物をはじめ医薬品や染料などに広く応用が可能である。本装置は適切な光源とフィルターを選択することにより様々な授業実践の場での活用が期待できる。

第 8 章 自作蛍光光度計によるビタミンB₁の分解速度測定

8・1 反応速度実験の教材としての扱い

反応速度は化学平衡と並び化学Ⅱの中心的学習課題の1つである。各教科書には様々な実験例が紹介されているが、表 8・1 に示すように大別して過酸化水素を分解し発生する酸素の体積を測定する方法とチオ硫酸ナトリウムの分解反応から硫黄ゾルの白濁を観察する方法の2つに分類される。それらは反応物の濃度と反応速度および温度と反応速度の関係について、その知見を得るには良好な実験として推奨されるが、速度定数を求めるには精度の点から困難がある。

平成 24 年度から始まった新学習指導要領において、反応速度は科目「化学」のなかの「化学反応と化学平衡」で扱われる。学習指導要領解説によれば、「反応速度における温度や濃度、触媒の影響などについて観察、実験を行い、反応速度や化学平衡の概念を理解させること」が主なねらいとされ、「反応速度については、例えば、過酸化水素の分解反応のような簡単な反応を取り上げ、速度定数を扱う。反応速度に影響を与える要因については、濃度、温度及び触媒の有無を扱う。」とある⁷²⁾。新教育課程においても、反応速度についての基本的な扱いは従来と同様と考えられる。

一方、アレニウスの式については旧課程の教科書においても「発展」のなかで取り上げている教科書はあるが⁷³⁾、新課程になり新たに記載する教科書が出てきている⁷⁴⁾⁷⁵⁾。今回、筆者は高等学校での実施可能な実験教材として、ビタミンB₁(以後チアミンとする)の分解反応の速度定数をチオクローム反応による蛍光強度の測定から求める方法を考案した。チアミンは重要な栄養素として理科に限らず保健体育や家庭科でも学んでおり、生徒にとっては馴染みのある化合物として、実験で使用するに適切な対象であるといえる。これまでの章のなかで簡易蛍光光度計を自作し、ビタミン B₂(リボフラビン)やサリチル酸の微量分析を可能とする実験教材を報告したが、今回はサリチル酸分析用に開発した装置をそのまま使用し、光源のみビタミンB₁測定用に 390 nm LED に置き換えた。ここではその実験結果と教材としての有効性について報告する。

表 8・1 教科書（平成 19 年検定済）の実験例⁷¹⁾

大日本図書 「反応速度の観察」
チオ硫酸ナトリウムと硫酸の反応。常温で濃度 5 条件。濃度一定で常温と 50℃。表にまとめる。
数研 「反応速度の測定」
過酸化水素と二クロム酸カリウムの反応。酸素の発生による質量の損失を電子天秤によってはかる。濃度や温度を変えて実験。
東京書籍 「反応速度」
過酸化水素と二酸化マンガンの反応。発生酸素をメスシリンダーで測定。常温で濃度 2 条件と濃度一定で温度 3 条件。速度を求めて「速度と濃度の関係」と「速度と温度」の関係を調べる。
第一学習社 「反応の速さ」
過酸化水素の分解反応。触媒（塩化鉄（Ⅲ））濃度 2 条件と濃度一定で温度 2 条件での実験。
実教 「反応の速さ」
過酸化水素の分解反応。触媒は $(\text{Fe}(\text{NH}_4)(\text{SO}_4)_2)$ 。濃度 2 条件，温度を変えて実験。
啓林館 「反応速度と温度・濃度の関係」
チオ硫酸ナトリウムと塩酸の反応。濃度，温度を変えて硫黄ゾルによる白濁までの時間を測定する。濃度と反応時間，濃度と時間の逆数の関係を表にまとめる。

8.2 チアミンの定量

8.2.1 チオクローム反応

チアミンはアルカリ性のもと、ヘキサシアノ鉄(III)酸カリウム（フェリシアン化カリウム）を加えて酸化させると図 8.1 に示すチオクロームに変化し、紫外線を照射すると青色の蛍光を発する。この性質を利用して、チアミンの定量では蛍光分析法が広く採用されている⁷⁶⁾⁷⁷⁾。

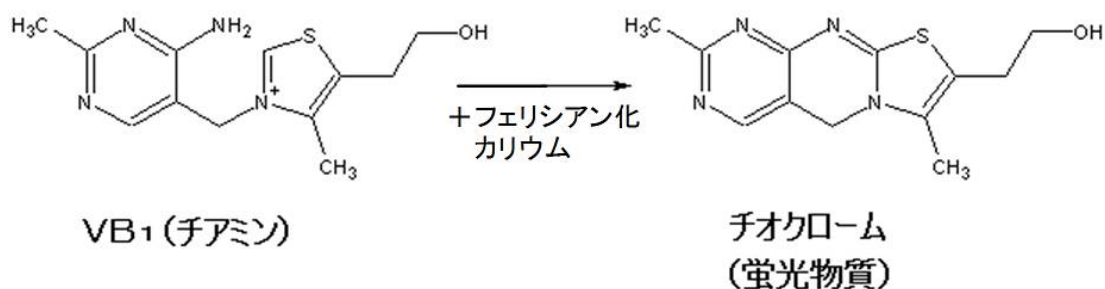


図 8.1 チオクロームの生成

8.2.2 測定装置の製作

実験に使用した簡易型自作蛍光光度計は第 7 章のものと同型であるが、光源はブラックライトから LED に変更した。基本構造を図 8.2 に示す。本体にはポリ塩化ビニル製パイプ（内径 20 mm、長さ 165 mm）を使用し、下端から 20 mm の位置に穴をあけ、SC フィルター（FUJIFILM SC39）をかぶせたフォトダイオード（HAMAMATSU S7183）を固定する。下端にはゴム製クッションパット（GCP-10B, WAKI SANGYO, テーブルや椅子の足元に装着する部品）をはめ込む。クッションパットの穴（直径 5 mm）へ LED（外径 5 mm）を差し込む。本体はスタンドに固定し、LED は直流電源装置へつなぐ。フォトダイオードは電流-電圧変換回路を経てデジタルマルチメーターにつなぐ。

チアミンの蛍光分析においては一般に励起光波長 375 nm、蛍光波長 440 nm~450 nm が利用される⁹⁾¹⁰⁾。そこで 375 nm と 390 nm の LED を用いてチアミンの蛍光強度を測定し、比較検討をおこなったところ、表 8.2 に示す通り、375 nm LED では約 10 倍の蛍光強度が得られた。微量分析が目的の場合、375 nm LED の使用が必要となろうが、今回の目的では低い感度のものでも充分と考え、低価格の 390 nm LED を使用することとした。

なお、受光素子に使用したフォトダイオード（HAMAMATSU S7183）の感度波長範囲

は 300~1000 nm であり，チアミンの蛍光波長はその範囲内にある。また，電流－電圧変換回路はフォトダイオードの仕様に合わせ，バイアス電圧型(図 8・3)とし，抵抗は 100 k Ω を用いた。

表 8・2 LED の比較 (数値は電圧 : mV)

チアミン塩酸塩	10ppm	20ppm	30ppm
390 nm LED	242	458	751
375 nm LED	2560	5220	6450

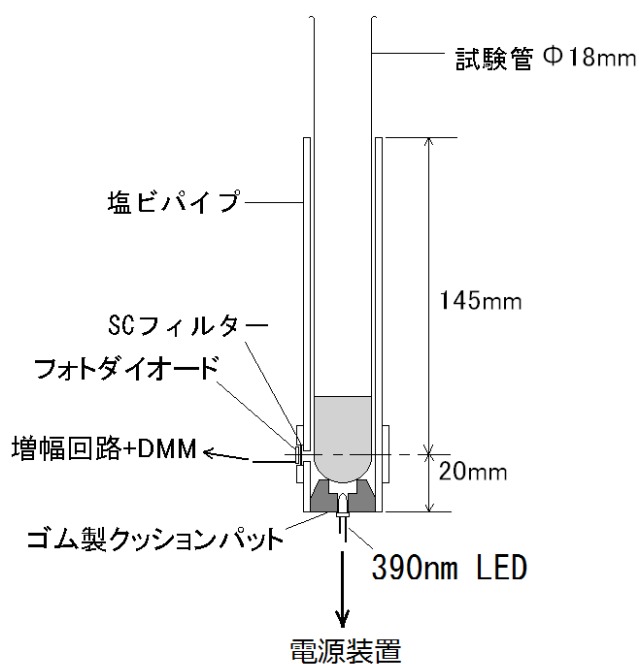


図 8・2 装置概略図

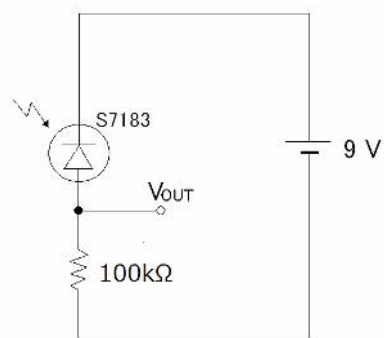


図 8・3 電流－電圧変換回路

8・2・3 チアミンの検量線

(1) 標準溶液の調製

試薬

300ppm チアミン塩酸塩水溶液：チアミン塩酸塩 300 mg を水に溶かし、0.1 mol/L HCl 1 mL 加えた後、水で希釈して 1000 mL とする。チアミンはアルカリ性にかたよると常温でも不安定になるため、保存するには塩酸の添加が必要である。

1%ヘキサシアノ鉄(Ⅲ)酸カリウム水溶液： $K_3[Fe(CN)_6]$ 1.00 g を水に溶かし、水で希釈して 100 mL とする。滴ビンへ入れて使用する。

操作

300ppm チアミン塩酸塩水溶液 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 mL をそれぞれ別の 50 mL メスフラスコに入れ、それぞれのメスフラスコへ 1% $K_3[Fe(CN)_6]$ 水溶液を 1, 2, 3, 4, 5 滴 (1 滴 0.034 mL) 入れ、さらに 1.0 mol/L NaOH 水溶液 0.5 mL を加えたのち、水で希釈して 50 mL とする。アルカリ下におけるチアミンの分解は速やかで、NaOH 水溶液を先に入れると、直ちにヘキサシアノ鉄(Ⅲ)酸カリウムを入れた場合でも、蛍光強度の減少が生じる。このため、 $K_3[Fe(CN)_6]$ 水溶液は NaOH 水溶液より先に添加する必要がある。

調整した標準溶液はそれぞれ、チアミン塩酸塩 6.0,12,18,24,30ppm に相当する。pH はこの条件で 12 である。10 分間静置したのち、5 mL ほどを試験管にとり、自作装置で蛍光強度を 3 回測定し平均を算出する。

(2)検量線の作成

縦軸に電圧(mV)をとったグラフを図 8・4 に示す。

高濃度チアミン塩酸塩の電圧値は 2450 mV で飽和に達するため(表 3)、 $f=2450$ として縦軸に $-\log(1-A/f)$ をとったグラフが図 8・5 である。直線性がよく検量線として使用することが可能である。ただし、励起光強度によって値は変わってくるので、測定時ごとに検量線の作成が必要となる。

表 8・3 チアミン塩酸塩高濃度における蛍光強度

チアミン塩酸塩(ppm)	120	180	300
電圧(mV)	2450	2450	2440

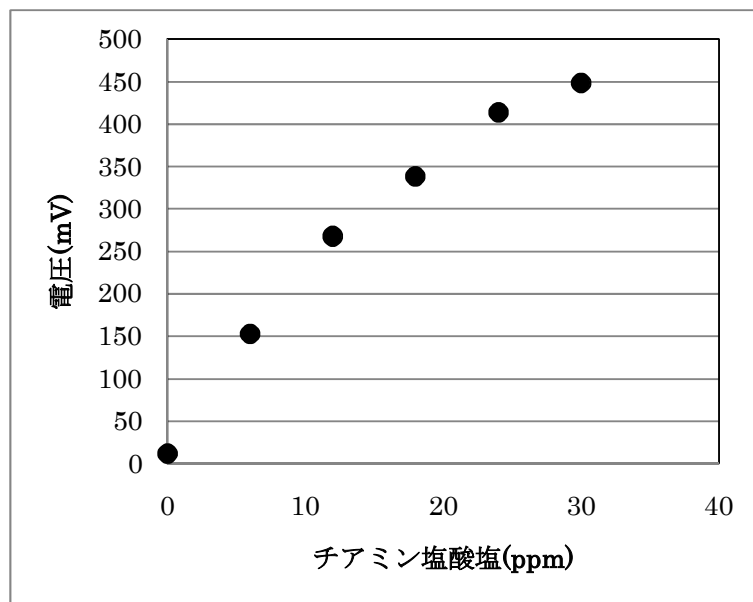


図 8・4 チアミン塩酸塩濃度と蛍光強度の関係

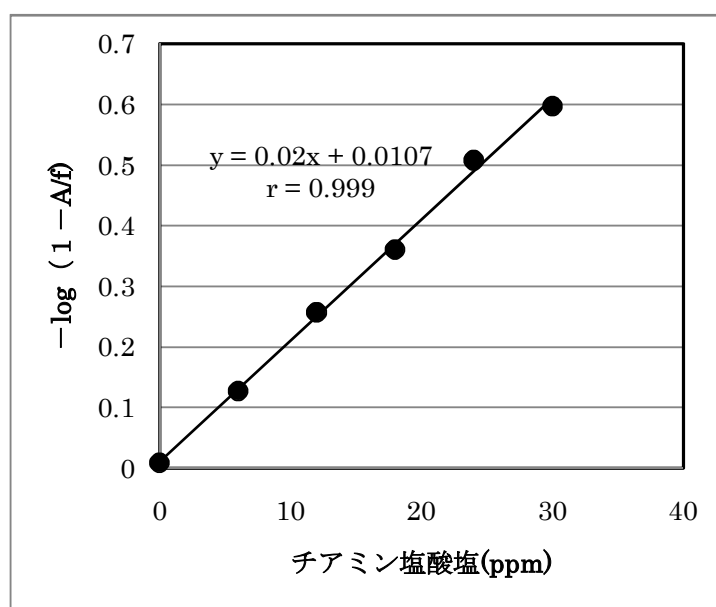


図 8・5 チアミン塩酸塩濃度と $-\log(1-A/f)$ の関係

8.3 チアミンの分解速度の測定

8.3.1 チアミンの分解反応

チアミンは重要な栄養素の1つであることから、食品に含まれるチアミンの分解については数多くの研究がなされている。Farrer(1955)は、チアミンの分解反応を1次反応として示し、10℃上昇すると反応速度定数は2~3倍になると論じている⁷⁸⁾。反応過程については、川崎・堀尾(1960)⁷⁹⁾、堀尾(1961)⁸⁰⁾⁸¹⁾⁸²⁾に詳しい。それによれば、チアミン塩酸塩水溶液をアルカリ性にして放置するとpH 10以上においてチオクロームの生成が阻害されるのは、図8.6のようにアルカリ下ではチアゾール環が開裂してチオール型B₁が生成し、ヘキサシアノ鉄(Ⅲ)酸カリウム試薬で酸化を行うとチオクロームの代わりにTDSが生成することが要因としている。

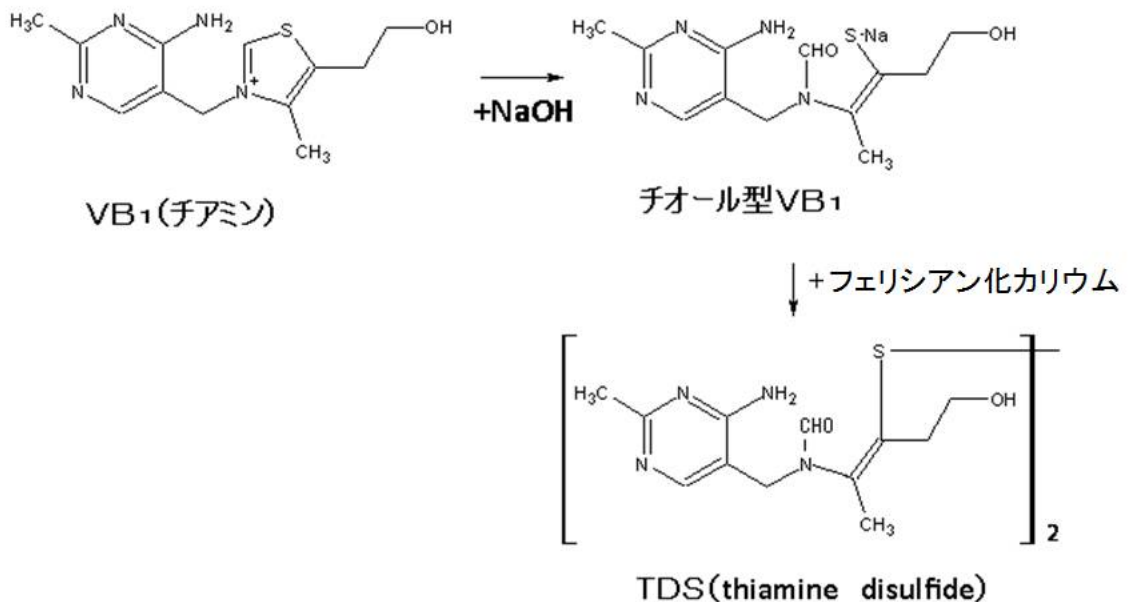


図 8.6 アルカリ下におけるチアミンの反応

8.3.2 反応速度定数の求め方

この分解反応の反応速度はチアミン濃度に比例する一次反応であり、よって次の式が適用される。

$$v = -\frac{\Delta[\text{thm}]}{\Delta t} = k[\text{thm}] \cdots (2)$$

ここで $[thm]$ は時間 t におけるチアミン塩酸塩の濃度、 k は反応速度定数である。

k を求めるに当たって、化学Ⅱの教科書では横軸に単位時間当たりの反応物の平均濃度を縦軸に反応物の平均速度を取りそのグラフの傾きから算出する方法を取っている⁸³⁾。表8・4には教科書法の一例を示した。

一方、(2)式の積分式は(3)式となる。

$$\ln[thm] = -kt + \ln[thm]_0 \quad \dots (3)$$

ただし、 $[thm]_0$ は時間0におけるチアミン塩酸塩の濃度である。(3)式より $\ln [thm]$ と t は直線的関係にあり、傾きより k を求めることができる。本報告では教科書の方法と積分式を用いた方法をそれぞれ行いその結果を比較する。

8・3・3 分解速度の測定実験

(1)実験方法

300 ppm チアミン塩酸塩水溶液 20 mL を 100 mL メスフラスコに入れ、水を加えて 100 mL とし、60 ppm 水溶液に調整する。100 mL コニカルビーカーに全量移し、ウォーターバス中で所定の温度に保つ。温度一定になったところで、1.0 mol/L NaOH 水溶液 1.0 mL を加え、2 回軽く振る。NaOH 水溶液を加えると同時にストップウォッチをスタートさせ、60 秒ごと（ただし、10℃付近では反応が遅いため、120 秒ごと）に駒込ピペットで溶液 5.0 mL を採取し、試験管に移したのち、直ちに 1%ヘキサシアノ鉄(Ⅲ)酸カリウム水溶液 1 滴を加え、よく攪拌したのち 10 分間静置し蛍光強度を 3 回測定し平均を取る。

(2)温度の設定方法

ウォーターバスの水温測定にはアルコール棒温度計を用いた。温度条件の設定では最高温度を常温にし、それより低い温度は氷を適量加えて調節した。実験開始時と終了時に温度を測定した。10 分間程度の実験時間内において、温度変化は 0.2~0.8 °C であった。表 8・5 および図 8・8、8・9 に記した温度は平均値である。

(3)実験結果と考察

図 8・7 に時間経過におけるチオクロームの蛍光強度変化の一例を示した。

横軸に反応時間、縦軸にチアミン塩酸塩濃度をとったグラフを図 8・8 に示す。温度と反応速度の関係及び反応物濃度と反応速度の関係はこのグラフからも読み取ることができる。図 8・9 は積分法に従い、横軸に時間を、縦軸に $\ln[\text{thm}]$ をとったものであり、傾きから速度定数 k を求めることができる。16.9 °C で $k=0.0085 \text{ s}^{-1}$ 、25.1 °C で $k=0.0167 \text{ s}^{-1}$ が得られ、一般に温度が 10 度上昇すると速度は 2~3 倍になるといわれるが本実験結果もこの条件に当てはまる。表 8・5 は各温度における測定値を積分法と教科書法で処理し、それぞれ k を求めた結果を示したものである。教科書法は積分法に比べ、相関係数 r が低くデータとしてはばらつきが大きい。化学Ⅱは 3 年生における履修科目であり、この時期にはすでに数学において積分を学習済みであることを考慮すれば、生徒実験としても積分法での実施は可能な選択と考える⁸⁴⁾。

一般に速度定数 k と温度 T との関係はアレニウスの式から導かれる(4)式であらわされる。ただし、 A は頻度因子、 E_a は活性化エネルギーを表す。したがって $1/T$ を横軸に $\ln k$ を縦軸にとってプロットした場合、直線が得られれば、傾きより活性化エネルギーを求めることができる。

図 8・10 は、積分法から求めた $\ln k$ と $1/T$ から作成したグラフ (アレニウスプロット) である。直線に近似することができるため、これより活性化エネルギーを求めたところ、 $E_a = 61.5 \text{ kJmol}^{-1}$ が求められた。

$$\ln k = -\left(\frac{E_a}{R}\right)\frac{1}{T} + \ln A \quad \dots (4)$$

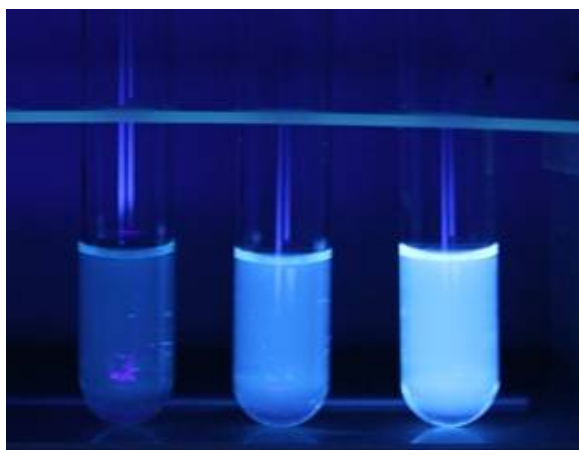


図 8・7 アルカリ条件下における
チオクロームの蛍光強度の減退
(右から 1,8,15 分後。10.5 °C,
pH 12, 光源 : ブラックライト)

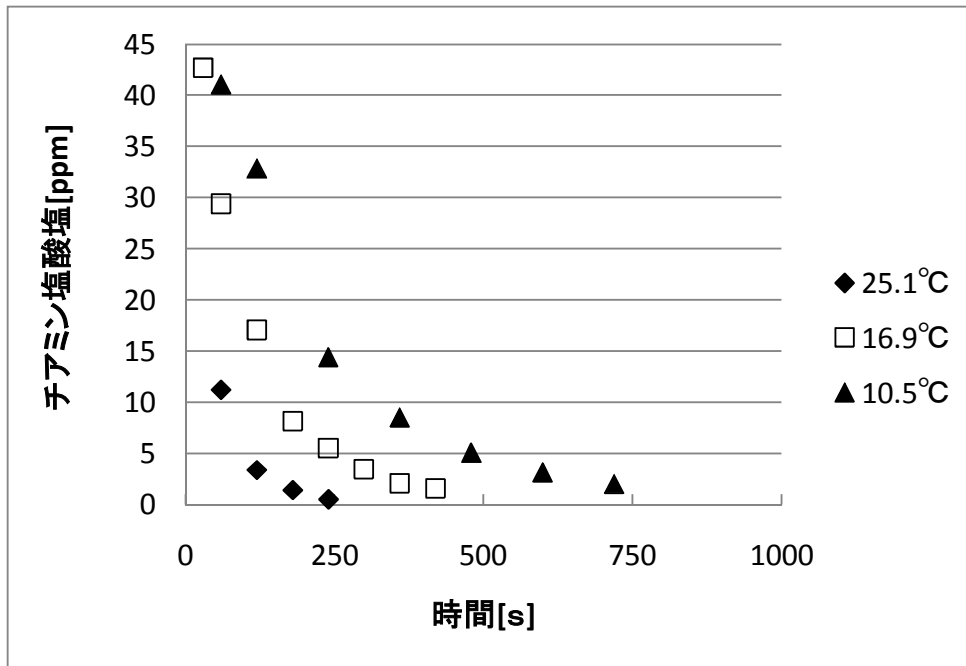


図 8・8 反応時間とチアミン塩酸塩濃度の関係

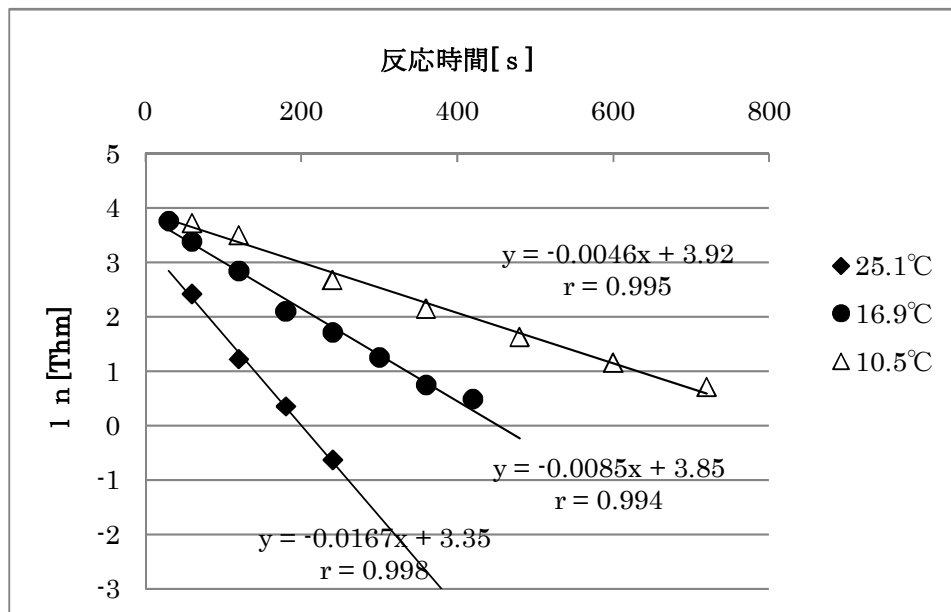


図 8・9 反応時間と $\ln[\text{thm}]$ の関係

表 8・4 教科書法の一例 (温度 16.9℃)

時間(s)	チアミン濃度(ppm)	平均濃度(ppm)	平均速度(ppm/s)
60	29.4	23.2	0.205
120	17.1		
180	8.18	12.6	0.149
240	5.53	6.85	0.0442
300	3.49	4.51	0.0339
360	2.10	2.79	0.0232

表 8・5 積分法と教科書法の比較

t (°C)	積分法		教科書法	
	k (s ⁻¹)	r	k (s ⁻¹)	r
28.0	0.0162	1.000	0.0153	1.000
25.1	0.0167	0.998	0.0188	0.998
20.2	0.0106	0.998	0.0108	0.986
19.0	0.0090	0.993	0.0062	0.869
16.9	0.0085	0.994	0.0096	0.976
11.7	0.0053	0.995	0.0064	0.854
10.5	0.0045	0.994	0.0069	0.988

r : 相関係数

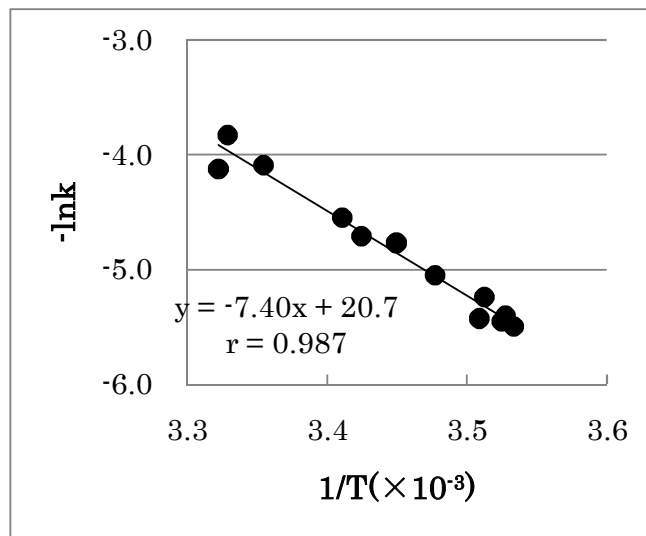


図 8・10 積分法により求めた速度定数のアレニウスプロット

8・4 授業実践

8・4・1 授業の目的

本装置を用いた反応速度実験の教材としての有効性を生徒のパフォーマンスや実験後のレポート及び質問紙調査から明らかにする。

8・4・2 対象生徒

化学Ⅱを受講する理系3年生16名と17名の2クラスで実施した。反応速度についてはすでに履修済みである。

8・4・3 実施内容

平成23年10月及び11月に合計5時間の実験を表8・6の実験計画に従って行った。2～3名で1班を構成し、全8班である。1時間目以外は班単位での活動とするため、実験に必要な器具は蛍光光度計を含め、8班分用意した。測定時には計時係と操作係（3名ではそれに加えて記録係）に役割を分担した。温度条件は、10月実施のクラスにおいては約20℃（室温）と約10℃、11月実施のクラスにおいては約15℃（室温）と6℃前後のそれぞれ2条件を設定した。検量線の作成にあたっては、基礎実験で行ったようにPCを用いて対数関数に換算し直線に近似させることはせず、チアミン濃度－電圧のグラフ（図8・4）をグラフ用紙に手書きさせ、グラフ上のプロットを自在曲線定規を用いて曲線で結び、これを検量線として使用させた。作業の単純化を図ることで、実験内容がより理解しやすくなることを狙った。検量線からチアミン濃度を求める過程も生徒自ら作成したグラフから手作業でおこなった。ただし、5時間目は表計算ソフトExcelを用いて、グラフ（図8・8、図8・9）作成をおこない、図8・9の近似直線から反応速度定数の算出までを行った。

8・4・4 評価方法

実験中の生徒のパフォーマンスの観察、実験後の質問紙調査、提出されたレポートにより、測定値の精度、実験の操作性、内容の理解度、興味・関心の度合いの4点について評価した。

表 8・6 実験計画

	時間	内容
1 時 間 目	20 分	実験の事前学習 <ul style="list-style-type: none"> ・一次反応における反応速度定数 k の求め方 (積分法について) ・チアミンの蛍光特性について
2 時 間 目	15 分	実験方法の説明 <ul style="list-style-type: none"> ・蛍光光度計の原理 ・蛍光光度計の使い方 ・検量線について
	35 分	標準溶液を用いた蛍光強度の測定 <ul style="list-style-type: none"> ・標準溶液の蛍光測定 ・検量線の作成(練習) 駒込ピペットの使用法 (練習)
3 時 間 目	50 分	チアミンの分解反応測定 <ul style="list-style-type: none"> ・低温条件での実験 ・検量線の作成 ・試料の濃度決定
4 時 間 目	50 分	チアミンの分解反応測定 <ul style="list-style-type: none"> ・高温条件での実験 ・検量線の作成 ・試料の濃度決定
5 時 間 目	50 分	反応速度係数の算出 (PC の活用) <ul style="list-style-type: none"> ・データの入力 ・グラフ (図 8・8, 図 8・9) の作成 ・反応速度定数の算出

(1)測定値の精度について

表 8・7 に生徒実験の結果を示す。いくつかの班で測定値が大きくばらつき、 r 値が低くなっている。 $r = 0.95$ 以上の k 値に関してプロットしたのが図 8・11 である。概ね基礎実験値と近似する値が得られた。値のばらつきの主な要因は、サンプリング操作の未習熟にある。これについては質問紙調査の結果からも 31%の者が難しいと答えており、自由記述のなかでもいくつか指摘がなされている。駒込ピペットで一定量採取することや、スポイトで 1 滴を正確に滴下することができない生徒は多く、基本的な実験器具の扱いに関わる事前学習の必要性が明らかになった。

(2)実験の操作性

蛍光光度計の操作性については 81%がやさしい（図 8・12, 設問 4：当てはまる＋やや当てはまる）と回答している。生徒の実験の様子をみても、2 時間目に始めて装置に触れたときには使用方法についての質問がいくつかあったが、3 時間目からは手際よく操作しているのが観察された。検量線の作成に関しては、生徒全員が自在曲線定規を使うのははじめてであったため、戸惑う様子もみられたが、二度目からは問題点は見いだされなかった。質問紙でも 81%がやさしい（図 8・12, 設問 5：当てはまる＋やや当てはまる）と答えている。検量線の作成からチアミン濃度の算出までの一連の作業に関しても実験プリントの手順に沿って生徒は作業を順調に進めた。

(3)実験内容の理解度

これについては(a)蛍光強度から検量線を用いて濃度を求める方法についての理解度、(b)積分法による k の算出方法についての理解度、(c)反応物濃度と反応速度および温度と反応速度の関係についての理解度の 3 項目について、(a)(b)は質問紙によって評価をおこない、(c)についてはレポートの内容から評価した。

(a)69%が理解できたとの肯定的回答であった。作業は順調にできていたが、内容面では理解不十分を自覚している生徒もいる。機器分析の基本に当たる部分であるだけに、説明により時間をかける必要があると言える。

(b)肯定的答えは 50%であった。実験者は全員理系であるため、十分に理解可能と実験前に

は判断したが、「積分を理解していないのでよくわからなかった。」と自由記述のなかでも書かれてあるように、数学Ⅲを履修していない者も多く(数学Ⅲ選択者は31名中12名)、理解度の改善に向けて入念な事前指導の必要が明らかになった。一時間目を50分の設定とする等、今後の課題としたい。

(c)この項目は生徒にとっての実験目的にあたるものである。実験プリントでは「①横軸に時間(s), 縦軸に VB_1 濃度(ppm)のグラフから反応物の濃度と反応速度の関係についてわかることを述べよ。②横軸に時間(s), 縦軸に VB_1 濃度(ppm)のグラフから温度と反応速度の関係についてわかることを述べよ。」と2つの質問を設定し、それぞれの解答として「①濃度が高いと反応速度は速い(濃度が低いと反応速度は遅い)。②温度が高いと反応速度は速い(温度が低いと反応速度は遅い)」の内容があれば正解とした。61%の生徒が正解を書き、6%が1問のみ正解で、残りの生徒は不正解あるいは空欄であった。不正解者と図8・7がきちんと描けなかった班はほぼ合致する。実験結果の良し悪しそのまま理解度につながったと言える。「実験は反応速度の理解に役立ったか。」の質問に対しては75%が肯定的に答えており、多くの生徒にとって、授業で学んだ内容の理解強化につながっていることが推察される。

(4) 実験に関する意欲・関心について

これについては自由記述によって生徒の意見を集めた。「おもしろい」という率直な意見もあるが、「何日もかかって大変だったけれど、協力してできたのがよかったです。」「あまりうまくできなかった。失敗した原因をちゃんと突き止めたい。計算もちゃんとできるようにする!」といった言葉に意欲的に実験に取り組んだ実感と反省が込められている。「濃度や速度をはかる実験は少しのミスが大きく、結果にひびくことを実感しました。」からは、緊張感をもって取り組んだ様子が伝わってくる。全員理系であるためにもともと実験好きの生徒は多い。そうした環境では、難易度の高い実験に挑戦させることで生徒の意欲がより高まったとも考えられる。

8・4・5 授業実践のまとめ

装置の操作から検量線の作成，さらには濃度の決定までの過程について問題は少なく，生徒のパフォーマンスも良好であった。ただし，試料のサンプリングなど基本的実験操作の習熟には時間をかける必要がある。濃度の基礎データをパソコンに入力し，グラフ作成させる作業については近似直線の引き方などの手順を示したプリントを配布したが，あとはそれに従って班ごとに作業は進み，特段の指導は必要としなかった。情報などの科目でパソコンを使い慣れている生徒にとっては容易な作業といえる。

実験内容の理解度を促進するためには，1時間目に全体の実験の流れについてももう少し時間をかけて詳細な説明をおこなうべきであった。全5時間の実験で各時間の最初にその日の実験手順については説明をおこなったが，「値を取ってゆくだけの作業なので簡単な実験だったけれど，1つ1つの実験で何をしているのかがいまいち理解できなかつたです。」という感想からは，実験の全体像が生徒によってはうまくつかめていなかった様子が窺える。

温度設定については今回，常温とそれより約10℃低い2条件とした。低温条件ではウォーターバスに氷水を入れての実験となるが，10分程度の測定時間では1℃以内の温度変動に収まった。10分程度の測定時間で結果を出すためには今回の実験条件では10℃程度の温度条件が適当である。一方，25℃を超えると反応は速すぎ，約4分で反応速度は終了する。こうした条件を考えると今回，実践した温度幅での実験が最適と考える。

実験者にとっては初めての複数時間での実験であり，内容的にも難しかったとの意見が出されたが，理系生徒3年生最後の実験として，慎重な操作を必要とする定量実験は今後の進路の上でも有意義な時間となったと考える。

今回，最初にビタミンB₁の蛍光特性を紹介し，実演して見せた時，生徒からは驚きの反応があった。導入において生徒の関心を引ける点は教材として重要な要素である。

表 8・7 生徒が算出した速度定数

班	高温条件		低温条件	
	t [°C]	k [$\times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$]	t [°C]	k [$\times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$]
A	19.5	11 (0.99)	9.0	3.2(0.96)
B	19.5	9.9(0.99)	9.0	3.8(0.99)
C	19.5	18 (0.99)	8.0	5.6(0.98)
D	19.5	12 (1.00)	9.5	4.4(0.90)
E	19.5	9.7(1.00)	8.0	4.0(0.98)
F	19.5	9.3(0.89)	10	4.4(0.99)
G	19.5	7.8(0.78)	11	3.2(0.99)
H	19.5	4.2(0.64)	6	1.9(0.98)
I	15.5	6.8(0.97)	7	4.6(0.98)
J	15.5	8.8(0.96)	6	0.5(0.45)
K	15.5	7.6(0.99)	7	4.8(0.96)
L	15.5	9.1(0.97)	7	4.2(0.98)
M	15.5	9.0(0.98)	5	3.8(0.99)
N	15.5	2.2(0.79)	4	0.3(0.16)
O	15.5	12 (0.99)	6	6.1(0.99)
P	15.5	4.2(0.91)	7	1.3(0.78)

注・ () 内の数値は相関係数 r を表す。

- ・高温条件 (A~H : 19.5°C, I~P : 15.5°C) については実験日の室温のため、すべての班が同一温度。

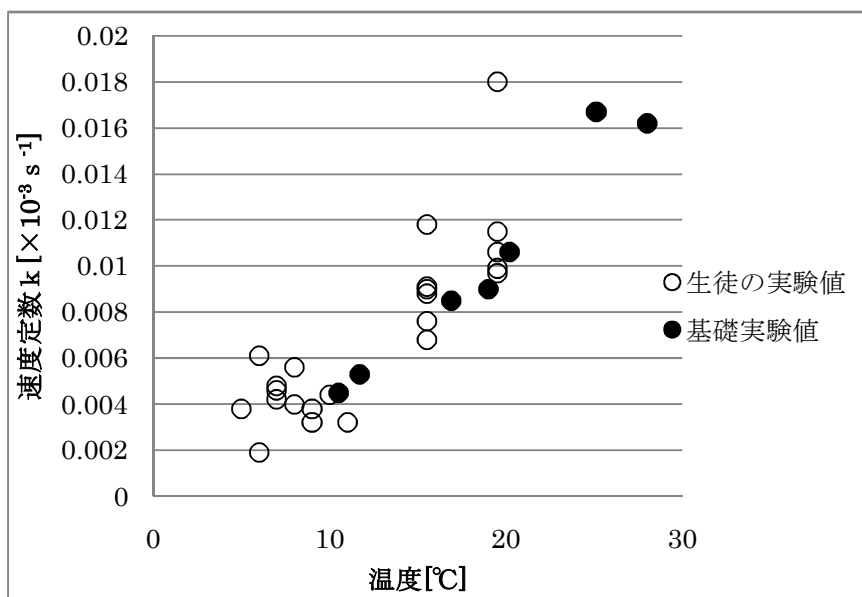


図 8・11 生徒が算出した速度定数 ($r < 0.95$ の値は除く)

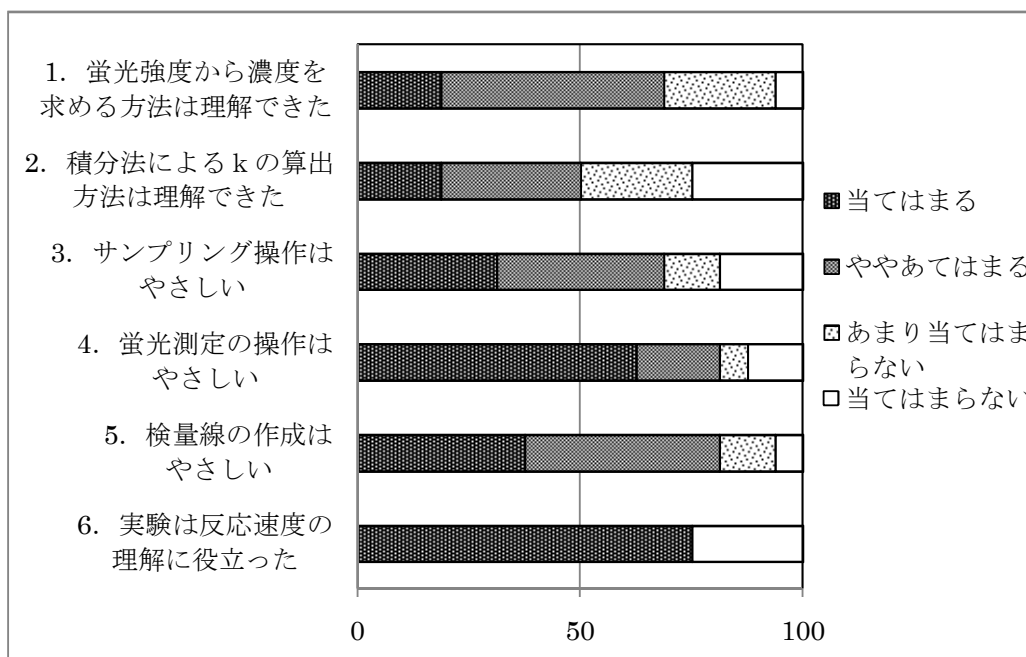


図 8・12 質問紙調査の結果

表 8・8 生徒による自由記述 (抜粋)

- ・ヘキサシアノ鉄(Ⅲ)酸カリウムを1滴加えるのに苦労した。
- ・駒込ピペットの練習がもっとほしかった。
- ・駒込ピペットを用いての5 mL, スポイトの1滴を正確にとらないと, 実験値が狂うのでとても繊細な実験だと思いました。
- ・サンプリングに数回失敗してグラフが上手にできなかった。
- ・スポイトで1滴落とす練習も必要だと思った。
- ・実験操作がかなりシビアで緊張感のある実験になったと思う。
- ・実験方法も簡単で計算もパソコンがしてくれるので楽だった。
- ・パソコンがグラフを出してくれるのはありがたかった。
- ・きっちり時間を測って, 分刻みですこし緊張したけれど, 大きな誤差も出ずよかったです。
- ・濃度や速度をはかる実験は少しのミスが大きく, 結果にひびくことを実感しました。
- ・ピペットで5 mLを正確に量るのが難しくて, もう少し正確に量れたらもっと正確な値が出たと思う。
- ・すごく易しい実験で, 授業だけでは理解に苦しんだけど, この実験を通してわかりやすくなった。
- ・積分を理解していないので, よくわからなかった。
- ・値を取ってゆけどの作業なので, 簡単な実験だったけれど, 1つ1つの実験で何をしているのかがいまいち理解できなかったです。
- ・温度が少し違うだけで大きく結果が変わることに気付いた。
- ・今までやってきた実験の中ではわりと理解できた方だと思う。
- ・何週にもわたってゆっくりできたのがよかったのではと思う。
- ・難しい実験でした。でも少し理解できました。
- ・空が明るい暗いかで蛍光強度の値が多少変わるので, もっと光を遮ることのできる方がいいと思った。
- ・あまりうまくできなかった。失敗した原因をちゃんと突き止めたい。計算もちゃんとできるようにする!
- ・ビタミンが分解しているなんて目には見えないけれど, 光を当てるだけでわかるなんてびっくりしました。
- ・今までやってきた実験の中で一番うまくできた気がする。
- ・おもしろい実験でよかった。

8・5 おわりに

筆者はこれまでも自作蛍光光度計を用いた定量分析を生徒実験に取り入れてきた。それから実践のなかで、機器分析の基本となる検量線を用いた一連の操作の理解は高校生にとって十分に可能なことを指摘した。また、蛍光現象は生徒にとって魅力ある対象であり、興味関心をもたせる教材となる可能性も示した。

今回は一歩進めて、この濃度分析の手法を反応速度について調べる実験に応用した。生徒にとっては、蛍光分析という初めての実験手法で学習したばかりの化学反応を調べるといふかなりハードルの高い実験となったが、全員が熱心に実験し、多くの班で良好な結果を出したことはこの教材の可能性を示すものとする。

本教材を活用するにあたっての必要な実験条件を以下に挙げる。

- (1) 実験者は数学Ⅲにおける積分法をすでに学習していること。
- (2) 今回は5時間の実験計画であったが、事前学習として、もう1時間が必要である。
- (3) 実験者は駒込ピペットの扱いに習熟していること。必要ならば基本操作のための練習時間をとる。
- (4) 装置本体は1000円未満で製作可能である。実験班の数だけ装置は用意することが望ましい。

以上の条件から本教材の適切な活用方法としては、「理科課題研究」の他、「総合的な学習の時間」のなかの選択課題、あるいは化学クラブなどの部活動における研究課題などが考えられる。また、装置の製作は容易であることから、時間に余裕があれば、実験者に製作させることは装置の原理を理解させるうえでより効果的な方法と考える。

第9章 ビタミンB₂の定量分析をテーマにした課題研究

9・1 授業計画

これまで探究活動や課題研究で活用できる教材のいくつかを開発し報告してきた。この章では実際に取り組んだ課題研究について報告する。主題は食品中のビタミンB₂分析である。筆者は当時、工業、商業科が併設される専門高校に勤務していたが、そこでは3年生に対し週2時間の課題研究が必修となっていた。平成19年度、電気科の課題研究における取り組みの1つとして、表9・1に示す授業計画に基づく実践をおこなった。

9・1・1 対象生徒

電気科では1年の理科総合Aで化学の基本を学んでいる。2年では物理Iが必修で、化学Iは未履修である。今回課題研究を実施するにあたり、担当教員6名がそれぞれテーマを提示し、希望調査によって生徒の班分けをおこなった。本テーマには化学に関心を持つ3年生男子5名が希望した。受講生徒の化学に対する知識は基本的内容に限られるものの意欲関心は高い。

9・1・2 計画案

表9・1に授業計画を示した。2時間連続の授業を週に1回ずつ、2学期末まで合計14週28時間を割り当てた。立案の上で以下の点をねらいとした。

「興味・関心を高め、考える力をつけるために、準備・実験・考察の一連の研究活動を一人一人に実践させることとする。すなわち、一人一実験を基本とする。」

また、1学期の目標としては以下の3項目を定めた。

- (1)機器分析の基本となる検量線を用いた分析法を理解できること
- (2)装置の原理を理解できること
- (3)装置を改良してゆく過程を体験することの3点である。

(1)(2)の目標達成のため、一人ずつ自ら装置を組み立て、実験することを課し(3)は

考える力を育む上で重要な試行体験であると位置づけ、以下のような学習プランを立てた。

([] 内の数値は表 9・1 の週番号を表す。)

- ①機器分析の原理を吸光光度法を例に学習する [1]。
- ②電流・電圧変換回路を使わない装置で分析実験を行い、検量線が直線に近似できない点を把握する [2,3]。
- ③原因を考えた上で、光電池の特性を学ぶ [4]。
- ④光電池の特性実験を行い、電圧値よりも電流値のほうが有効であることを確認し、電流を増幅させるための装置の必要性に気づく [4]。
- ⑤電流・電圧変換回路を製作する。それを用いた装置によって検量線が直線に近似できることを実験で確かめる [5,6]。
- ⑥作成した検量線を用いて栄養ドリンク剤中のリボフラビンの定量分析を行う [6]。

なお、6 週目における栄養ドリンク剤中のリボフラビン分析においては、フィルター未使用条件とした。

2 学期の目標は以下の 4 点である。

- (1)食品の分析を試料づくりから体験し、1 つ 1 つの実験操作の意味を理解する。
- (2)実験操作に習熟する。
- (3)情報の検索、結果の集計、処理にコンピュータを利用する。

(ビタミンについての調べ学習、分析処理に Excel の利用)

- (4)最終週に PowerPoint を使用した発表の場を設け、一連の研究をまとめる機会とする。

また、実践過程を把握するため、以下の 2 点を実施することとした。

- (1)各自が実習内容をどの程度理解しているかを把握するため、毎回レポート (プリント) の提出を求める。
- (2)この課題研究の目標の達成度を把握するため、学期末ごとに質問紙調査を行う。

表 9・1 授業計画

一 学 期	1 週	・分析化学の役割, 物質の色 (光と色, 補色の関係), 吸光光度法の原理 ・光電比色計を用いた検量線の作成	講義 実習
	2 週	・蛍光分析の原理 ・簡易蛍光光度計の基本構造 ・簡易蛍光光度計の組み立て	講義 実習
	3 週	・ビタミン剤中のリボフラビン分析 電流-電圧変換回路を用いないで測定	講義 実習
	4 週	・光電池の特性実験 光の強さと起電圧の関係, 光の強さと電流の関係	実習
	5 週	・OPアンプを用いた増幅回路の設計と組み立て	実習
	6 週	・栄養剤中のリボフラビン分析 電流・電圧変換回路を用いた装置で測定 アンケート調査と感想文の作成	実習
二 学 期	7 週	・インターネットを用いたビタミンについての調べ学習 様々なビタミンのはたらき, 欠乏症, 多く含む食品 ビタミンB ₂ 分析をしたい食品の決定	実習
	8 週	・試料のつくり方について ・試料づくりの準備 (試薬の調整など)	講義 実習
	9 週	・試料づくり 1	実習
	10 週	・試料づくり 2 (濾過)	実習
	11 週	・分析 装置の改良 (フィルター取り付け) 分析操作, 結果の解析	実習
	12 週	プレゼンテーションのためのスライドの作成 1 表計算ソフト Excel とプレゼンソフト PowerPoint の使用	実習
	13 週	プレゼンテーションのためのスライドの作成 2	実習
	14 週	プレゼンテーションの発表 アンケート調査と感想文の作成	実習

9・2 授業内容と実践結果

各時間で予定した授業の内容と生徒の実践結果を感想も交えて以下に報告する。

< 1 学期 >

1 週目 物質の色について、吸光光度法の実験

1 時間：この課題研究のテーマと実施計画の説明。物質の色について（光の吸収と補色の関係について）吸光光度法の原理について説明。

2 時間：光電比色計を用いてサフラニン溶液の吸光度を測定する。段階的に濃度を変えて測定し、検量線を作成する。検量線に基づく未知濃度試料の測定法を体験する。光電比色計は1台であるため測定値は共通であるが、検量線は生徒1人1人が作成する。入射光の波長と透過光の波長の関係を把握させるため、530 nm（緑）と660 nm（赤）の二種類の入射光を用いて吸光度の測定を行う。

実践結果：電気科の実習でグラフ作成はよくおこなっており、慣れた手つきで全員時間内に作業を終えた。検量線の意味は授業中の応答のなかで全員が理解できていると判断できた。入射光660 nmの実験ではサフラニン溶液の濃度に関わらず吸光度が0であるとわかったときには生徒の何人かは少し驚いた様子であった。補色の関係についてもイメージできたのではないかと判断した。

2 週目 蛍光光度法について、蛍光光度計の製作

1 時間目：蛍光の原理についての説明（電子の励起状態と基底状態、簡易蛍光光度計の構造と測定原理）。

2 時間目：生徒1人1人による簡易蛍光光度計の製作。

実践結果：蛍光の原理については生徒から難解との意見が多く出された。この説明にはもう少し時間をかける必要があると思われる。簡易蛍光光度計の製作においては本体のポリ塩化ビニル管を所定の形状に加工したものを配布した以外はすべて各自に加工と組み立てを行わせた。全員が時間内に完成させることができた。

3 週目 ビタミン剤中のリボフラビン分析

2時間連続：自作の蛍光光度計の性能を見るため、リボフラビン標準溶液における測定を

おこない検量線を作成する。そのあと、ビタミン剤溶液を試料として測定をおこない、この濃度を検量線から決定する。

実践結果：検量線では 1.00ppm での測定電圧値に 32 mV ~ 98 mV の幅があったが、ビタミン剤の 1錠 (13 mg) 当たりの含有量は平均 11.9 mg (標準偏差 1.08) の結果を得た。このことは装置の感度は様々であるが測定値の精度は確保できていることを示している。電流-電圧変換回路を用いず DMM で起電圧を直接測定したため、測定値は直線には並ばなかったがフリーハンドで近似曲線を引かせることとした (図 9・2 左)。フリーハンドのため、きれいな検量線が引けない生徒が多いなか、「直線の測定値を得るための工夫を次回考えてみよう」とコメントし、まとめとした。

4 週目 フォトダイオードの特性実験

2 時間継続：暗室内での実験。天井から白熱灯を吊り下げ、可変抵抗器で明るさを調整できるようにする。白熱灯の真下、床上に光電池と照度計を並べて設置し、光電池は DMM に接続する。白熱灯を消灯した状態から順次照度を上げ、照度計の値と光電池の電圧値 (mV) および電流値 (μ A) を同時に測定する。照度-電圧値、照度-電流値のグラフから蛍光強度を測定するに当たり、電圧、電流どちらを測定する方が適切かを考えさせる。

実践結果：1 名が白熱灯の照度調節、他は 2 名ずつ組となり、照度-電圧、照度-電流をそれぞれ測定させた。結果は全員で共有し各自にグラフを描かせた。一例を図 9・1 に示す。照度-電流値の関係のグラフはほぼ直線に近似できた。「蛍光測定には光電池の電流値を測定する必要があること。しかし電流値は微弱であるため、増幅装置が必要なこと。」をまとめとして授業を終えた。

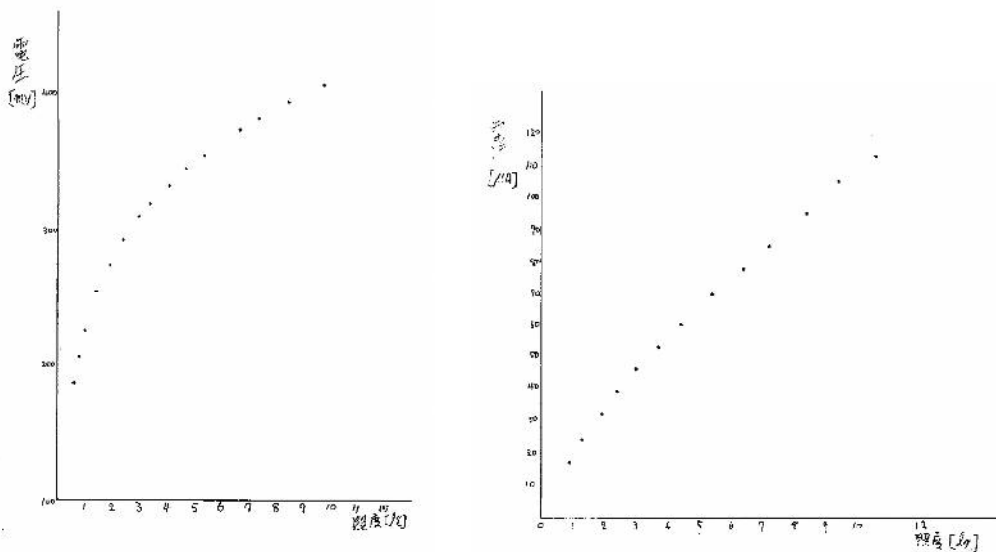


図 9・1 生徒が作成した光電池の照度－電圧値(左)，照度－電流値(右)のグラフ

5 週目 OPアンプを用いた増幅回路の組み立て

2 時間継続：OPアンプの特性についての説明。回路図の作成と組み立て。

実践結果：OPアンプの増幅効果については電気科の専門科目で履修済みであるが、OPアンプを用いた実習はこれが始めてである。アンプ特性の復習から授業を開始したがほとんど理解しておらず、回路図も当初予定では各自に作成させるつもりであったが結局筆者が提示し、それに基づいて基盤上に配線し作成することとなった。最後に完成した電流-電圧変換回路の動作をチェックした。全員が時間内に製作を終えることができた。

6 週目 栄養剤中のリボフラビン分析

2 時間継続：栄養剤中のリボフラビン含量の測定を電流-電圧変換回路を組み込んで測定をおこなう。

実践結果：全員が時間内に測定を完了した。検量線が直線に近似できることを生徒全員で確認し、各自に自分の測定結果と栄養剤の成分表示値を比較させた(図 9・2)。

本時が 1 学期の最後の授業となるため、アンケート用紙に記入させ感想を書かせて終了した。アンケート結果は 9・3・1 で述べる。

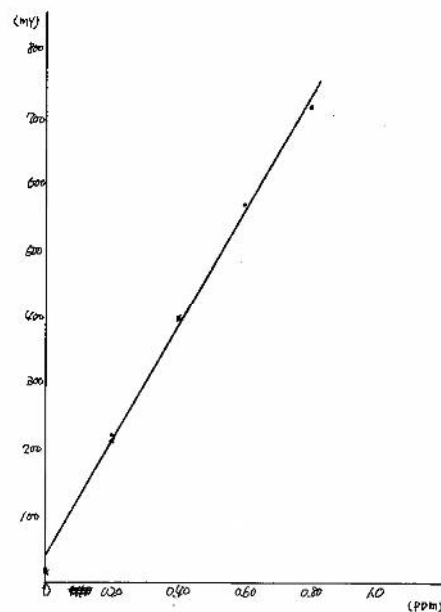
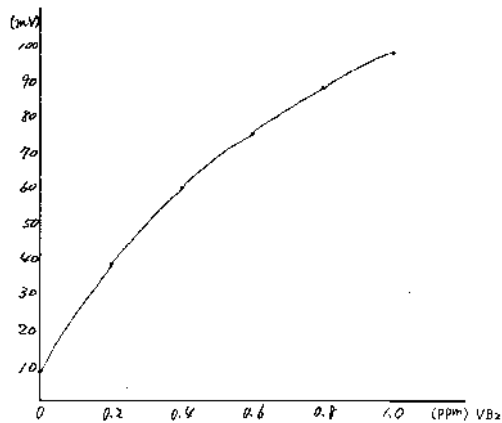


図 9・2 生徒の作成した検量線

左図：3週目に作成。電流-電圧変換回路未使用。

右図：6週目に作成。電流-電圧変換回路使用。

< 2 学期 >

7 週目 インターネットを用いたビタミンについての調べ学習

- ・ ビタミンの種類とそのはたらき
- ・ ビタミンB₂を多く含む食品

実践結果：本時は、就職希望者のための面接指導と重なったため1時間での実施となった。

生徒はコンピューターを用いた実習を通じてインターネットでの検索には慣れており、限られた時間ではあったが効率よく情報を取り込んでいた。次回は食品中のビタミンB₂分析にはいるため、調べた結果に基づいてビタミンB₂を多く含む食品から1品目、各自に選択させた。結果として、牛レバー、カタクチイワシ、卵、アーモンド、モロヘイヤの5品目となった。

8 週目 分析用試料のつくりかた

1 時間：蛍光分析をおこなうため五訂日本食品標準成分表分析マニュアルに基づき「・ 試料溶液の作成」の方法について説明する。

2 時間：試料づくりのための器具の準備や洗浄，試薬の調製。

実践結果：今までの生徒の操作を観察していて，ピペットの扱いやメスフラスコの定量がまだまだ不慣れで雑な面が多く，そうした器具取り扱いの注意もしながら本時は終了した。

9 週目 試料づくり（1回目）

2 時間継続：試料のすりつぶし～タカジアスターゼ B 添加し恒温槽に入れるまでの行程をおこなう。各品目ごと 5 試料用意する。

実施結果：あらかじめスーパーで購入した 5 品目を各自に配布し，乳鉢ですりつぶす行程から始めた。卵については茹で卵を使用した。モロヘイヤのすりつぶしに時間がかかり，最後は全員総掛かりでモロヘイヤのすりつぶしを行ったが予定以上に時間を使い，塩酸で 30 分間抽出する工程までで終了時間となった。次週の実施内容を考え，試料を恒温槽に入れ 17 時間酵素分解するまでの行程は放課後，筆者がおこなった。

10 週目 試料づくり（2回目）

2 時間継続：恒温槽から試料を取り出し，ADVANTEC No.1 で前処理ろ過の後，メンブレンフィルター 0.2 μm で濾過する最終工程をおこなう。

実施結果：全員が時間にゆとりを持って作業を完了した。卵は最終のメンブレンフィルター 0.2 μm で濾過した後も白く懸濁していたため，念のためもう 1 度メンブレンフィルターを通したが改善はみられなかった。
空いた時間で次週の分析手順を確認して終了した。

11 週目 定量分析

1 時間：装置にフィルターの取り付け。フィルターの効果についての説明。

標準溶液の作成。

2 時間：装置のセットアップと測定

実施結果：装置のセットアップについてはこれまで幾度もおこなってきたため、手際よく行い、分析は順調に時間内に終了した。5 品目についてそれぞれ 5 試料ずつ用意されているので 5 名の生徒 1 名が 5 品目 1 試料ずつ分析できるように分配した。分析後は今まで通り、検量線を作成し食品中の含有量を算出した。最後に食品成分表と比較を行った。

表 9・2 に生徒が算出した分析値を示す。

表 9・2 食品中のビタミン B2 含有量 (mg /可食部 100 g 当たり)

生徒	A	B	C	D	E	平均	食品成分値*
アーモンド	0.46	0.38	0.39	0.44	0.47	0.43	0.92
モロヘイヤ	0.30	0.47	0.31	0.44	0.49	0.40	0.42
牛肝臓	2.55	2.54	2.18	2.30	2.28	2.37	3.00
イワシ	0.35	0.38	0.29	0.44	0.35	0.36	0.10
茹で卵	0.86	0.82	0.71	0.91	1.49	0.96	0.40

* 科学技術庁資源調査会編「五訂日本食品標準成分表」による

12 週目 PowerPoint を用いたプレゼンテーション用スライドの作成

1 時間：発表用スライドのまとめかたについての説明

Excel を用いた検量線の作成，写真の取り込み

2 時間目：PowerPoint によるスライドの作成

13 週目 PowerPoint によるスライドの作成

実施結果：今までの研究のまとめとして，PowerPoint を用いたプレゼンテーション用

スライドを作成させることとした。1人1台PCを用いて、まずはExcelを用いて検量線を描かせたり、写真を取り込んだりとデータの取り込み作業を行わせ、その後は各自自由にスライドを作成させた。13週目の終わりに次週は発表の時間を取ることを連絡する。

14週目 研究発表

1時間：発表の注意と原稿作成の時間

2時間：発表

実施結果：プロジェクターを用意して順次発表させたが、5名で共通の研究をしてきたため、内容はほとんど同じものとなった。最後にこれまでの研究のまとめとして感想文を作成させ、この課題研究の終わりとした。生徒の作成した発表用スライドの一例を図9・3に示す。

9・3 実践の評価

9・3・1 一学期終了時の評価

受講した生徒を対象に6週目の終了時、実験内容と本装置に関わる質問紙調査を実施した。先に挙げた授業目標の3項目と装置の操作性については4段階評価、一連の実習に対しての感想は自由記述とした。

(1) 検量線を用いた分析法に関する理解度

「よくわかった」(2名)「どちらかといえばわかった」(3名)と全員が肯定的に答えた。6週目の実習では各自が自主的に測定値から検量線を作成し、未知試料の濃度を求めており、この観察からもこの調査結果は妥当と考える。

(2) 装置の原理に関する理解度

5名全員が「どちらかといえばわかった」としている。物質が蛍光を出す原理についての説明では全員から内容が難しいとの意見が出たが、一人一人が装置を自作し、組み立てることで装置の測定原理についての理解はできたものとする。

(3) 装置の改良に関する理解度

この項目は「OPアンプを用いた増幅器（電流-電圧変換器）はなぜ必要なかわかりましたか。」という質問に置き換えた。結果はよくわかった（2名）どちらかといえばわかった（1名）どちらかといえばわからなかった（2名）と肯定、否定分かれる結果となった。この項目は学習プログラムにおける重要な目標であり、教師の支援のあり方が問われる結果となった。具体的には電流・電圧変換器の有無による検量線の比較に時間をかけ、違いを強調する必要があったと考えている。

(4)装置の操作性について

4名が使いやすいと答えており、操作性に問題はないと言える。1名は本体の強度不足を指摘した。

(5)測定値の精度

生徒の測定結果を表9・3に示す。各生徒とも表6・1の測定値(5.33 mg)に近い値を算出している。一番小さなAの測定値を精査すると各標準溶液の3回の測定値のばらつきが大きく、各濃度の平均値も直線に乗っていない。表9・3には各生徒の作成した検量線の相関係数rを示したがこの数値からも傾向が読み取れる。測定時の装置に与える振動や衝撃が大きな誤差要因になっていることも考えられる。

表9・3 生徒の測定結果

生徒	A	B	C	D	E	平均値
測定値	4.6 mg	5.2 mg	5.5 mg	5.6 mg	6.0 mg	5.4 mg
検量線 r	0.996	0.999	0.999	0.998	0.998	

9・3・2 二学期終了時の評価

14週目の終了時に簡単な質問と感想欄からなる用紙を配布した。ここでは課題研究を通じて生徒が何を学び、何を考えたかを抽出することを目的とした。質問内容は以下の3点である。

- (1)この研究を通じてわかったこと。
- (2)この研究で疑問に思ったこと。

(3)本研究をヒントにやってみたいと思ったこと。

8 ヶ月にわたる課題研究を通じて、習得した知見と新たに生じた疑問を自分のなかで整理することで、研究の意義を自ら発見することもここでは意図した。

表 9・4 に生徒の意見をまとめた。蛍光の原理や蛍光光度法についての理解や疑問がでることを期待したが 2 学期の食品の分析に関わる実験内容に集中した。理科の 1 時間で終了する実験に慣れた彼らにとっては分析作業の大変さに驚いた様子が率直に記させている。

紫外線のこと、光電池のことなどの疑問点をその時だけで終わらせずに自分で調べてみることを、実験結果についての疑問点に関しては考察として実験過程をふり返らせることが「考える力」の育成には必要な支援と考える。

回答内容から読みとれるように研究内容についての思考はまだまだ浅い段階で留まっている。それは実習中においても筆者が生徒の対応から感じていたことと一致している。指示通りに一生懸命に実験はするものの自ら疑問点を質問したり、実験や装置に工夫をする段階に至らなかった点は今後の実施計画の改善点として残った。

本研究をヒントにした新しい研究テーマに関しては生徒の発想に期待したが、なかなか独創的なテーマは生まれてこない。これは筆者が常日頃から感じている生徒の実態である。故に課題研究において研究テーマを生徒に自由に発想させることは本来の趣旨に照らして本来あるべきあり方ではあるが、実際には教師の提案から実施することが必要となろう。ただし、教師主導での実践では、その目的を十分に説明し、実験者が納得し、研究テーマが自身のテーマとして把握できるよう努力する必要が教師側には生じる。表 9・4 にある「何の目的で実験をしているのか。この実験結果を今後どう使ってゆくのか。」という率直な意見は今回の大きな反省点である。

表 9・4 課題研究終了時の質問に関して生徒の回答

(1) この研究を通じてわかったこと

- ・紫外線，可視光線と光の波長の関係
- ・試料づくりが大変・・・。
- ・試料づくりの後の分析に入るまでの準備も大変。
- ・自作の光度計はかなり使えると思った。
- ・卵やイワシにはビタミンB₂が意外と多かった。
- ・実験は時間と手間がかかる。
- ・レバーとイワシはくさかった。

(2) 本研究で疑問に思ったこと。

- ・紫外線はどうして人の目には見えないのか。
- ・光電池はなぜ光を測ることができるのか。
- ・なぜ卵のビタミンB₂の含有量は成分表示の倍近くになったのか。
- ・何の目的で実験をしているのか。この実験結果を今後どう使ってゆくのか。

(3) 本研究をヒントにやってみたいと思ったこと。

- ・清涼飲料水中のビタミンの定量。
- ・他の食品に含まれているビタミンも測ってみたい。
- ・アルコールの度数を測ってみたい。

9・3・3 感想にみる生徒の意欲・関心

生徒の感想に関しては1学期、2学期まとめて表9・5に示した。1学期の感想からは自分一人で行う実験に困難を感じながらも次第に上達する過程に充実感を感じている様子が窺える。自作装置の教材的価値はその安価な点のみならず、自作の過程を通して主体的な実験への取り組みを促進する効果が期待できる点にある。1学期、2学期を共通して感想の中から関心・意欲の高さを読み取ることができる。

表9・5 生徒の感想

<p>1学期終了時の感想</p> <ul style="list-style-type: none">・蛍光光度計の作成は普通に買うよりも安くつくし、ちゃんと実験もできるので便利だなと思った。実験はというと最初はうまくできず失敗してばかりいたけど、やっていくうちにだんだんと上手くなっていったと思います。・ホールピペットでメスフラスコにビタミン剤を入れて薄めたり、自分たちで測って検量線を書いたり、特にOPアンプを用いた増幅回路の作成の時、細かいはんだ付けなど難しいところがとてもありました。でも、とても充実したいい時間でした。・蛍光光度計を自作して、自作した蛍光光度計でも結構正確な値が出たので良かった。・普通の授業とは違い、測定する装置を自分でつくり、測定するものもつくり実験した。いつもの聞くだけの授業より楽しかったし自分でほとんどのことをやるので難しかった。
<p>課題研究終了時の感想</p> <ul style="list-style-type: none">・実験はおもしろかったです。実験中は全員が真剣になり、夢中でやっていました。・プレゼンは難しい部分がほとんどだったけれど、自分なりに一生懸命まとめて発表しました。わりとスムーズにできたと思います。・自作の蛍光光度計を使って、自分で試料を測定したのが案外楽しかった。自作の蛍光光度計でもかなり正確な値が出たので、かなり使えると思った。・実験は楽しかった。身近なことを実験して勉強になった。・実験は手間がかかり、結果を出すまでのプロセスが長いのだということがわかった。試料は正確に測らなければならないので、そこが一番難しかった。・まあ、なかなか楽しかった。試料（試薬？）づくりがけっこう速く出来るようになってよかった。

9・4 まとめ

第5章の基礎実験の結果、自作蛍光光度計は教材として十分活用できるレベルにあるものと考え、本校の研究課題の一環として授業を実践した。検量線を用いた分析法、装置の原理に関する理解度や装置の操作性については第5章での報告と同様に良好な結果を得た。しかし、OPアンプの必要性を考えさせる一連の学習プログラムについては、未消化の生徒もおり、これについては今後の課題として残った。分析する試料の選定については第6章で分析・検討した品目を再度生徒に分析させる方法と、生徒自ら検索し調べだした品目について分析させる方法とどちらにするか悩んだが、最終的には後者を選択した。理由は食品分析の操作は感想にもあるように生徒の予想以上に手間のかかるものであり、それ故、やらされているという認識ではなく、調べてやろうという意欲をもたせることが優先されることと考えたからである。結果として食品成分表から大きく外れた分析値も算出されたが、その原因について考えさせたこともよい学習の機会であったと考えている。

食品やその栄養素を実験の対象にすることは科学を身近に感じさせ、実験により深い興味・関心を持たせるためには有効な手段といえる。平成6年施行の教育課程における化学ⅠAでは食品の化学に関する学習内容があり、生物ⅠAでも栄養素に関する内容があり、生徒の大多数が栄養素について科学的視点から学ぶ機会が与えられた。平成15年施行の旧課程では化学Ⅱのなかでのみ、食品の科学が扱われるようになったのは残念なことであるが、課題研究の実験例のなかにはこうした身近な素材が採り上げられている。始まったばかりの新教育課程における「化学」も栄養素の扱いは「化学Ⅱ」と大きくは変わらない。

一方、高等学校の家庭科では家庭基礎の「食生活の管理と健康」、家庭総合の「食生活の科学と文化」、生活技術の「食生活の設計と調理」のなかで栄養素の働きについては詳しく触れている。ビタミンについてもそのはたらきや欠乏症、多く含まれる食品や調理上の注意点についての記述がある¹⁴⁾。本装置はこうした内容の理解を進め、知識の定着を促すのに適した教材であるといえる。理科教育に留まらず、家庭科や保健体育など教科横断的な活用についても考えてゆきたい。総合学習においても生徒に自作させながら、装置の仕組みと測定の原理を学習させれば、装置の改善や新たな工夫が生徒の手から生まれてくることが考えられ、考える力の育成にも役立つ教材となりうる。これから自作蛍光光度計の活用が広がることを期待している。

図9・3 生徒のプレゼンテーションスライド（一例）

食品中のビタミンB2分析

E3***番 * * * *

1

目的

- 食品中のビタミンB2の含有量を調べ、自作の簡易蛍光光度計でどれだけ正確に量れるか調べる。

2

ビタミンとは？

- 3大栄養素の炭水化物(糖質)、たんぱく質、脂質が体内でエネルギーに変換されるときや、体の構成物質に変換されるときに、その助けとしてビタミンが必要。

3

ビタミンB2の働き

- 体内で補酵素として働き、摂取した脂肪を効率よくエネルギーに変換する。
- 過剰症はほとんどなし。
- 欠乏症は脱毛など皮膚や粘膜のトラブルが起こり、目の充血や眼精疲労などの症状の他、進行すると白内障を起こすこともある。

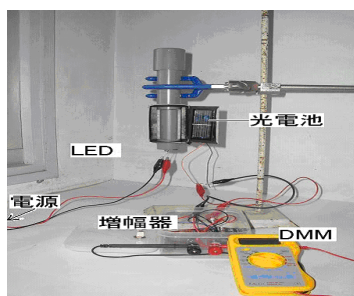
4

分析方法(蛍光光度計とは)

- 1、正確な濃度の分かっている溶液(標準溶液)とビタミン剤水溶液を用意する。
- 2、それぞれの標準溶液を試験管の半分まで入れる。
- 3、装置をスタンドに固定する。
- 4、電源にLEDを接続する。クリップで+-短絡しないように！！LEDを長時間直視しない！！
- 5、電流-電圧増幅器に光電池とテスターを接続する。
- 6、順番に標準溶液を装置に入れて、電圧値を読み取り、記録する。
- 7、0～0.10%の平均値をグラフにする。

5

自作の蛍光光度計



6

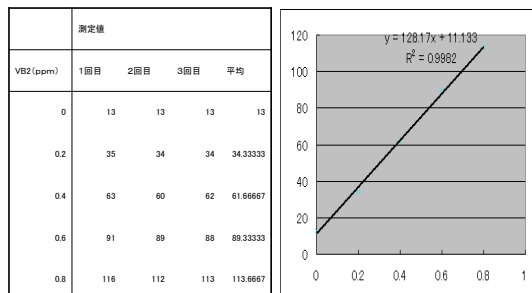
図9・3 生徒のプレゼンテーションスライド（一例）

試料の作成方法

- 1、試料採取 約3g(正確に量る)×5
- 2、0.1mol/l HCl50mlに溶かす。(100mlビーカー使用)
- 3、沸騰水中15分間煮る。
- 4、冷却後、4mol/l酢酸NaでpH4.5に調整。
- 5、タカジアスターゼ溶液5ml加える。
- 6、37℃～40℃、16～17時間。
- 7、100mlで定溶し、ろ過。

7

分析結果



8

分析結果2

試料	測定値				ビタミンB ₂ (ppm)	含有量 (mg/100g)	成分表示 (mg/100g)
	1回目	2回目	3回目	平均			
アーモンド	19	19	18	18.6	0.059	0.393	0.92
モロヘイヤ	17	17	17	17	0.046	0.307	0.42
牛レバー	55	53	51	53	0.327	2.18	3
カタクチイワシ	17	17	16	16.6	0.043	0.287	0.1
卵	25	25	24	24.6	0.106	0.707	0.4

9

考察

- 自作の蛍光光度計で測定した含有量は少ないと思っていたが、卵やカタクチイワシなどは、食品の成分表よりもかなりビタミンB₂の含有量が多かった。

10

感想

- 自作の蛍光光度計で、どこまで正確に測定できるか不安だったが、自作の簡易蛍光光度計でもかなり正確に測定できることが分かったので自作でもかなり使えると思った。

11

総括

2006年に実施された国際学習到達度調査（略称PISA）の結果では、科学的応用力で2003年の2位から6位、数学的応用力も6位から10位へと後退し、当時かなり問題視され、そのことは少なからずその後の教育課程に影響を与えたことは、新学習指導要領（平成21年）の「改訂の趣旨」に述べられている通りである。その後、2009年と2012年の調査結果から学力順位については改善されつつある（数学的リテラシー：2009年8位、2012年7位、科学的リテラシー：2009年5位、2012年4位）。ただし、科学に対する意識調査では、1・2ですでに述べたようにTIMSS2011の結果から「理科は好きではない」生徒の割合が多く、理科に価値を置く程度（①理科の成績が良いことは大切だ②理科を勉強すると日常生活に役立つ③他教科を勉強するために理科が必要だ④自分が行きたい大学に入るために理科で良い成績を取る必要がある⑤将来、自分が望む仕事に就くために理科で良い成績をとる必要がある⑥理科を使うことが含まれる仕事に就きたいの項目から構成される尺度）についても「理科に価値を置く」生徒は10%と国際平均値（26カ国）41%に比べ、低い値を示している。

「科学的に考える」には、その基礎となる知識や経験が備わっていることが条件となるがそれ以上に大切なのは、考えようとする意思である。意思が生じる要因としては①対象に関して興味・関心がある場合（内発的要因）、②考える必要性がある場合（外発的要因）とが考えられるが、いずれの要因も先の結果を見る限り現在の日本の若者には十分根付いているとは言えない。「科学的に考える力」の育成のため、探究活動や課題研究の推進が求められているが、授業の場に導入するにあたり、以上述べた要因をどのようなかたちで授業計画に取り込むかが重要である。

第9章で実践した課題研究では、毎週必ず実験を取り入れた。実験が基本的には生徒に楽しいものとして受け入れられることは1・2で述べたとおりである。次に外発的動機付けとして一人一実験の形態を取った。この環境では自分で考えなければ実験が先に進まないからである。これは「考えさせる」とともに全員に実験スキルを習得させることもねらいにあった。これらのねらいは9・3の実践の評価のなかの「実験内容の理解度」、「装置の操作性」、「測定値の精度」の結果からほぼ成功したと考える。ただし、この段階における

「考える」はあくまで内容を理解する段階に留まっている。

問題解決能力として求められている「考える力」とは図 10・1 にある試行錯誤のなかから正解に到達する力と定義できよう。その意味で今回の実践を振り返ると、一例を図 9・3 に示したが、彼らの最終週での発表内容はまだまだ分析結果の考察が浅いと言わざるを得ない。「卵のビタミン B₂ 値がどうしてこんなに高いのか。」と問うてみても「わからない」という返事しか返ってこない。実験中、卵の試料溶液が白く懸濁している事実を皆で確認しあったことと結びつけて考える力は育ってはいない。

ただし、感想にみられるように実験を楽しみ、結果を出すまでの実験のプロセスの長さを知り、実験操作に習熟してゆく学習の積み重ねが少しずつ「考える力」をつけてゆくものと期待している。

本研究では、生徒が探究的な活動に活用できる測定装置の開発に取り組んだ。測定装置に求められる要素として、①測定精度の確保 ②測定原理のわかりやすさ ③操作性の良さ ④興味関心の喚起 を挙げた。ここに報告した装置すべてにおいて①については実証した。②～④については授業実践をおこなった蛍光光度計において質問紙調査の結果からいずれの項目についても良好な回答を得ている。

最後に装置を自作することの意義を考えてみたい。生徒の活動は図 10・2 に示される次の 4 つの段階からなる。①安価で身近な素材を使い、構造な簡単な装置は生徒による自作を可能にする。②構造の簡単な装置を自作することにより測定の原理についての理解が進む。③その装置を用いて測定することで測定結果について測定方法にまで踏み込んだ考察が可能となる。④精度を上げるための装置の改良や新しい実験対象に向けての研究の発展が期待できる。以上の 4 段階の活動の流れはそれ自体が探究的活動とみなされるが、この教育的効果は市販の測定装置では期待できないものである。自作する意義は単に安価で機器分析の体験ができることに留まらず、教材として位置づける以上、こうした教育的効果こそ強調すべき点であることを指摘しておきたい。

本研究では測定装置の開発だけではなく、「身近な物質の定量」をテーマに実験対象の分析方法も含めた教材を提案してきた。いずれも科目を問わず課題研究等で採り上げることのできる内容であり、第 3 章の濁度計については環境学習に、第 4 章の酵素による油脂の分解反応や第 5 章以降の蛍光光度計を用いたビタミン B₂ の分析についても家庭科等で

教科横断的活用が期待できる。今回開発した装置のうち、屈折計と蛍光光度計は定量分析装置であり、何を測定するかはアイデア次第である。これら装置を活用して生活に密着した実験をさらに展開し、「科学の知識を得ることは楽しい」と生徒達に感じてもらえる授業を目指してゆきたいと考えている。

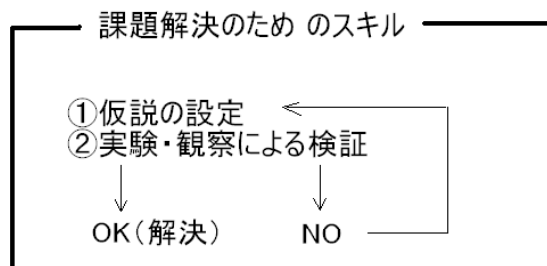


図 10・1 課題解決のためのスキル

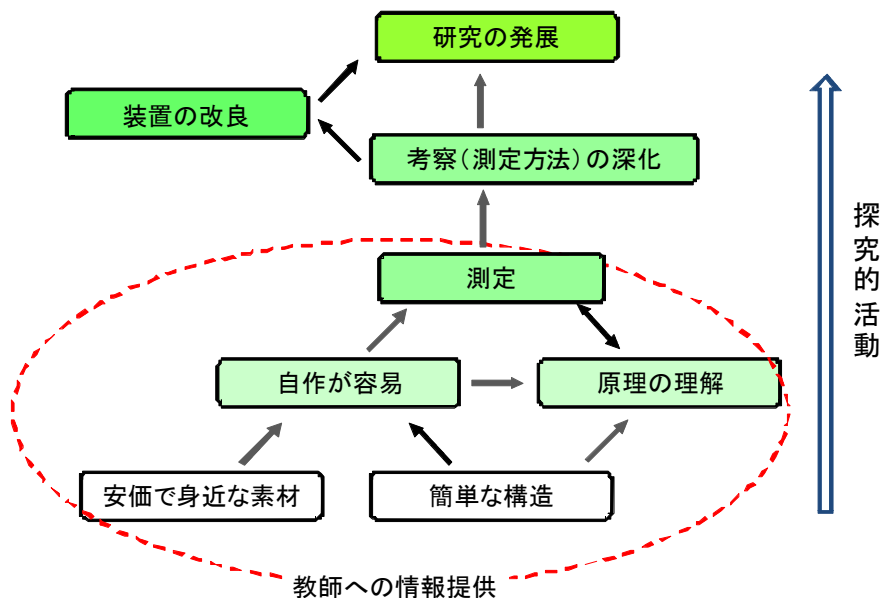


図 10・2 自作教材を用いた活動の流れ

謝 辞

本研究を進めるにあたり、終始暖かいご指導とご鞭撻を賜りました岡山大学教授 喜多雅一 博士，鳴門教育大学名誉教授 今倉康宏 博士， 鳴門教育大学名誉教授 山下伸典 博士に深く感謝の意を表します。

また、実験を進めるにあたり、貴重なご助言を頂きかつ、快く大学の設備、機器の使用を許して頂きました鳴門教育大学の早藤幸隆氏に深く感謝いたします。

また、開発した教材の有効性を検証するために授業実践の機会を与えてくださった兵庫県立洲本実業高等学校 前電気科長の温泉利治氏はじめ、電気科の先生方に心からお礼申し上げます。さらに、実験やアンケートに協力してしてくれた兵庫県立洲本実業高等学校，兵庫県立神戸鈴蘭台高等学校ならびに徳島県立城南高等学校の生徒の皆さんにお礼申し上げます。

引用文献および註

第1章

- 1) 文部省：中学校・高等学校学習指導要領理科編（試案），pp. 1-5，1951
Retrieved from <http://www.nicer.go.jp/guideline/old/s26jhn/chap1.htm>
- 2) 藤島弘純：日本人はなぜ「科学」ではなく「理科」を選んだのか，p. 90，築地書館，2003
- 3) 文部省：高等学校学習指導要領，pp. 1-18，1960
Retrieved from <http://www.nicer.go.jp/guideline/old/s35h/chap2-4.htm>
- 4) 文部省：高等学校学習指導要領，pp. 1-29，1970
Retrieved from <http://www.nicer.go.jp/guideline/old/s45h/chap2-4.htm>
- 5) 理科教育研究会：未来を展望する理科教育，p. 88，2006，東洋館出版社
- 6) 文部省：高等学校学習指導要領 第4節理科，1978
Retrieved from <http://www.nier.go.jp/guideline/s53h/chap2-4.htm>
- 7) 西條敏美：理科教育と科学史，pp. 185-195，2005，大学教育出版
- 8) 文部省：高等学校学習指導要領，pp. 1-22，1989
Retrieved from <http://www.nicer.go.jp/guideline/old/h01h/chap2-5.htm>
- 9) 文部省：高等学校学習指導要領，pp. 67-95，1999
- 10) 文部省：高等学校学習指導要領解説 理科編理数編，pp. 93-94，2001
- 11) 文部科学省：高等学校学習指導要領解説 理科編理数編，pp. 3-6，2009
- 12) 文部科学省：高等学校学習指導要領解説 理科編理数編，pp. 123-125，2009
- 13) 国立教育政策研究所編：TIMSS2011 理科教育の国際比較 国際数学・理科教育動向調査の2011年調査報告書，p. 101，p. 135，2013，明石書店
- 14) 茨城県教育研修センター：理科における創造性に関する実態調査，1998
Retrieved from <http://www.center.ibk.ed.jp/data/027/27/27-008.htm>
- 15) (独)科学技術振興機構理科教育支援センター 国立教育政策研究所教育課程研究センター：平成20年度 高等学校理科教員実態調査 集計結果(速報) [第I部 調査と結

- 果の概要], pp. 1-121, 2009, Retrieved from <http://www.jst.go.jp/pr/announce/20090330-2/>
- 16) 研究代表者小倉康：科学への学習意欲に関する実態調査「未来社会に求められる科学的資質・能力に関する科学教育課程の編成原理」調査結果報告書, pp. 1-13, 2004
Retrieved from <http://www.nicer.go.jp/ogura/Rep05abs.pdf>
 - 17) 山下伸典：観察・実験の充実を目指した教材開発, 理科の教育, 41 (5), pp. 16-19, 1992
 - 18) 平賀伸夫：理科教育における定量実験の扱い, 理科の教育, 52 (6), pp. 12-15, 2003
 - 19) 永川元：自作簡易比色計による環境分析, 科学と教育, 41 (11), pp. 762-765, 1993
 - 20) 中山昌紀, 山下伸典：太陽電池を用いた反射率計の試作とその教材としての活用, 科教研報, 13(4), pp. 173-178, 1989
 - 21) 勝又昭洋, 渡辺重義, 所康子, 山下伸典：時間測定を通じた教科の連携とそれを支援する教材の開発, 科教研報, 11(5), pp. 31-36, 1997

第2章

- 22) 田中謙介, 鄭黎, 山下伸典：自作反射率計によるホウ酸の定量分析とその授業実践 (一) —高等学校の授業実践—, 科学教育研究, 26(2), pp. 165-170, 2002
- 23) 中村英二他：高等学校教科書物理Ⅱ, p. 188, 2003, 第一学習社
- 24) 長倉三郎, 竹内敬人他：高等学校教科書化学Ⅱ, pp. 141-142, 2003, 東京書籍
- 25) Charles L.Braun and Sergei N.Sminov.: "Why is Water Blue?" ,J.Chem.Edu.,1993,70 8 ,612
Retrieved from <http://www.dartmouth.edu/~etrnsfer/water.htm>
- 26) 岡田洋稔：太陽電池, トランジスタ技術(9), pp. 305-309, 1981
- 27) E.O.Hulburt : J.Opt.Soc.Am., 35, p. 698,1945
鶴田匡夫：第4・光の鉛筆, pp. 16-30, 1997, 新技術コミュニケーションズ
- 28) 鳩貝太郎：海藻の光合成色素,理科の教育, 46 (4), pp. 34-35, 1997

第3章

- 29) 環境省総合環境政策局：環境学習2001年号, pp. 68-71, 2001
- 30) 梅埜國夫, 下野洋, 松原静郎：身近な環境を調べる, pp. 54-55, 1993, 東洋館出版

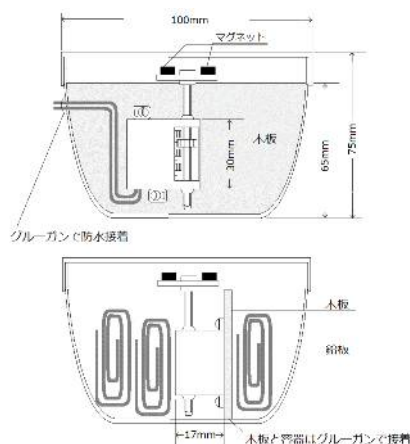
- 31) 河辺昌子：だれでもできるやさしい水のしらべかた, pp. 29-331, 1993, 合同出版
- 32) 山下浩之, 松本伸示, 尾関徹, 山下伸典：酸素反応を導入するための簡易比濁計による分解速度測定法, 科学教育研究, 26(2), pp. 105-112, 2002
- 33) 半谷高之, 小倉紀雄：水質調査法 第3版, p. 209, 1995, 丸善出版
- 34) 日本薬学会編：衛生試験法・注解, p. 932, 1990, 金原出版
- 35) 日本海洋学会編：沿岸環境調査マニュアルⅡ, p. 61, 1990, 恒星社厚生閣
- 36) David W. Clarke：Shoebox Spectroscopy -simple equipment can teach students basic spectroscopy-, The Science Teacher, 65(7), pp. 28-31, 1998
- 37) 勝又昭洋, 渡邊重義, 所康子, 山下伸典：時間測定を通じた教科の連携とそれを支援する教材の開発, 科教研報, 11(5), pp. 31-36, 1996

第4章

- 38) 吉田安規良：小中学校におけるタンパク質・脂肪の消化に関する指導内容の変遷, 化学教育ジャーナル, 10(1), 2007
Retrieved from <http://chem.sci.utsunomiya-u.ac.jp/v10n1/yoshida1/>
- 39) Yoshida, A.: A Simple Experimental Teaching Material for Understanding Digestion of Lipids with Lipase, 理科教育学研究, 48(2), pp. 115-125, 2007
- 40) 吉田安規良・本多正尚・杉尾幸司・松田伸也：消化に関する発展的教材実験の実践報告ー理科好きの生徒を対象としたサイエンスサマーキャンプのとりくみからー, 化学教育ジャーナル, 10(1), 2007
Retrieved from <http://chem.sci.utsunomiya-u.ac.jp/v10n1/yoshida2/>
- 41) 吉田安規良：タンパク質と脂肪の消化に関する発展的実験教材を用いた授業実践とその評価ー中学2年「動物の体のつくりと働き」における実践ー, 理科教育学研究, 51(1), pp. 147-160, 2010
- 42) 吉田安規良：発展的な教材を活用した中学校理科における化学と生物を関連させた授業実践ータンパク質と脂肪の消化を化学変化の導入へ用いた実践ー, 理科教育学研究, 52(2), pp. 155-169, 2011

- 43) 武井理：理科教育の基礎・基本に関わる課題の解決を目指した教材・教具の開発，
兵庫教育大学大学院修士課程教科・領域教育専攻自然系コース修士論文， pp. 24-40，
2001
- 44) Rogalska,E., Cudrey,C., Ferrato,F., Verger,R: Stereo selective Hydrolysis of
Triglycerides by Animal and Microbial lipases, Chirality, 5, pp. 24-30, 1993
- 45) 山口重雄：屈折率 物理One Point 14, pp. 94-97, 1981, 共立出版
- 46) 日本化学会編：化学便覧 基礎編Ⅱ, p. 641, 2004, 丸善
- 47) 静岡県立静岡工業高等学校：2 屈折率の連続変化と光の進路, 生徒理科研究論文集，
pp. 67-71, 2003, 静岡県総合教育センター
Retrieved from <http://gakusyu.shizuoka-c.ed.jp/science/ronnbunshu/top.htm>
- 48) 森元七：酵素化学－理論・実験, pp. 204-206, 1929, 内田老鶴圃
- 49) 日本工業標準調査会，工業用リパーゼの活性度測定方法, pp. 1-7, JIS K0601, 1995
- 50) 防水型マグネチックスターラーのつくりかた

密閉式のポリプロピレン容器 (screw-top KEEPER 500 mL 岩崎工業) の中央に多段ギヤボックス (楽しい工作 No.190 タミヤ) を固定し，付属の円形アームに掲示用マグネット (ネオジウム磁石 1020NT コクヨ) 2 個を接着する。多段ギヤボックスのギヤ比は 9.7 (3V で回転数 647 rpm) にする。水より比重を大きくするために鉛板を幾重にも折って隙間に入れ，導線はパワーハウスにつないで電圧の調整で回転数を変化させる。



防水型マグネチックスターラーの設計図

- 51) グリセロキナーゼ, ピルビン酸キナーゼ, L-乳酸水素酵素を用いるこの分析法は OIL (葡萄・ワイン国際機構), IFU (国際ジュース製造業連合会) などで採用されており, 以下の OIV の HP にて分析原理は公開されている。Reference;OIV-MA-AS312-05 Retrieved from <http://www.oiv.int/oiv/info/enmethodesinternationalesvin#autres>
- 52) 必要な試薬がキット化されており, 340 nm の吸光度からグリセリンが定量できる。1 キット¥17300。
Retrieved from http://www.food-analysis.jp/f_kit/product/013.php
- 53) リパーゼ AP 6 は天野エンザイム株式会社の製品であり, その情報は以下の HP で公開されている。
Retrieved from <http://www.enzymedirectory.com/moreinfo.php?id=1791&wc=1>
- 54) Okamura, S., Iwai, M., Tsujisaka, Y. : Positional Specificities of Four Kinds of Microbial Lipases, *Agr.Biol.Chem.*, 40(4), pp. 655-660, 1976
- 55) 岩井美枝子・辻坂好夫・奥村晋・葛本弘義 : 微生物リパーゼの油脂分析への利用, *油化学*, 29(8), pp. 587-591, 1980

第 5 章

- 56) 本田数博, 有菌秀敏, 森義仁, 藤枝修子 : 青色 LED を光源に用いる緑茶クロロフィルの蛍光測定, *化学と教育*, 50(4), pp. 326-328, 2002
- 57) 村松隆・早坂智恵・安達菜央 : 湖沼の富栄養化状態の把握を目的としたクロロフィルの定量—蛍光光度計の試作とその利用—, *宮城教育大学環境教育研究紀要*, 7, pp. 84-90, 2004
- 58) 萬木貢 : LED 蛍光光度計の開発と金属アルミニウムの分析, *全国理科教育大会 (北海道)*, pp. 144-147, 2003
- 59) PAUL DELAHAY 著, 神原富民訳 : 機器分析, pp. 251-254, 1959, 共立出版
- 60) 日本薬学会 : 衛生試験法・注解, pp. 220-221, 2000, 金原出版

第 6 章

- 61) 五訂日本食品標準成分表分析マニュアルの解説, 日本食品分析センターp. 165 2002 , 中央法規
- 62) 五訂日本食品標準成分表分析マニュアルの解説, 日本食品分析センターp. 166 2002 , 中央法規
- 63) 栄養ドリンク剤の成分表示は 100mL 中ビタミンB₂リン酸エステル (リン酸リボフラビンナトリウム) 5mg とある。よって, 本検体についてはビタミンB₂リン酸エステルを標準溶液として測定を行った。標準溶液の作成法, 分析方法はリボフラビンと同一である。表 6・1 における本検体の成分表示はビタミンB₂リン酸エステルの値のまま表記し, リボフラビンとしての換算は行っていない。
- 64) 食品中のビタミンB₂活性をもつ成分としてはリボフラビンの他, リボフラビンリン酸エステル類がある。タカジアスターゼBは炭水化物分解としての働きの他, ビタミンB₂活性を持つ成分すべてをリボフラビンに変化させる作用がある。五訂日本食品標準成分表分析マニュアルでは この酵素の働きを使って, 総ビタミンB₂量をリボフラビン量として測定する方法をとっている。ただし, 酵素分解には恒温器を用いて 16 ~ 17 時間が必要となり, 実験の準備において大きな負担となるため, 今回用いた食品において添加の有無がどれだけ測定値に影響するかを調べることは教材としての活用を考える上で必要と考えた。

第 7 章

- 65) 厚生労働省：第十四改正日本薬局方, p. 215, 2001.
Retrieved from <http://jpdb.nihs.go.jp/jp14/pdf/0215-1.pdf>
- 66) 桜井弘：薬学のための分析化学, pp. 49-51, 1999, 化学同人
- 67) 前田昌子・今井一洋：増訂版コアカリ対応分析化学, pp. 141-142, 2007, 丸善
- 68) 田中謙介：自作装置による蛍光物質の定量分析とその授業実践 — ビタミン剤に含まれるビタミンB₂の定量分析 —, 理科教育学研究, 46(2), pp. 39-47, 2006.
- 69) 田中謙介・早藤幸隆・今倉康宏：自作蛍光光度計を用いた食品に含まれるビタミン

B₂の定量分析, 理科教育学研究, 48(2), pp. 141-148, 2007.

- 70) ブラックライトの光は目に有害な 300 nm 以下の紫外線は含まないと注意書きにはあるが、教材としての安全上、生徒には紫外線カットの安全めがねの使用を義務づける必要がある。

第 8 章

- 71) 野村祐次郎他, 改訂版 高等学校 化学Ⅱ, p.95, 2007, 数研出版など
- 72) 文部科学省: 高等学校学習指導要領解説理科編理数編, pp.66-67, 2009
- 73) 齋藤烈他, 化学, p.86, 2007, 啓林館
- 74) 井口洋夫他, 化学, p.119, 2012, 実教出版
- 75) 辰巳敬他, 化学, p.152, 2012, 数研出版
- 76) 財団法人日本食品分析センター編: 分析実務者が書いた 五訂日本食品標準成分表 分析マニュアルの解説, pp.160-164, 2001, 中央法規
- 77) 日本薬学会編: 衛生試験法・注解, pp.217-220, 2000, 金原出版
- 78) K.T.H.Farrer: “The Thermal Destruction of Vitamin B1 in Foods”, *Advances in Food Research*, 6, pp. 257-311, 1955
- 79) 川崎近太郎・堀尾嘉友: ビタミンB₁の溶存酸素による酸化, *ビタミン*19, pp. 48-53, 1960
- 80) 堀尾嘉友: チオクロム生成反応 (I) ビタミンB₁の赤血塩またはブルムシアンによる酸化とその反応成績体のろ紙クロマトグラフィーによる検索, *ビタミン*, 21, pp. 515-519, 1960
- 81) 堀尾嘉友: チオクロム生成反応 (III) フェリチアンカリによるビタミンB₁よりチオクロムの生成と pH の関係, *ビタミン*, 24, pp. 79-84, 1961
- 82) 堀尾嘉友: チオクロム生成反応 (V) フェリチアンカリによるビタミンB₁の酸化におよぼす溶存酸素の影響, *ビタミン*, 24, pp. 88-92, 1961
- 83) 竹内敬人他, 化学Ⅱ, pp. 90-91, 2007, 東京書籍
- 84) 平成 24 年度から始まった新教育課程のもとでは「化学」の 2 章に反応速度は含まれている。今では学校によっては 2 学年の早い時期に学習することもありえる。

総括

- 85) 国立教育政策研究所編：TIMSS2011 理科教育の国際比較 国際数学・理科教育
動向調査の2011年調査報告書, p. 106, 135, 2013, 明石書店