

視認性を重視した環境科学実験教材の開発とその利用

*三品佳子・**村松 隆・***加藤 慎也

Development and Use of Teaching Material for Environmental Science Experiment in
Consideration of High Visibility.

MISHINA Yoshiko, MURAMATSU Takashi and KATO Shinya

要 旨

本論文は、水環境の実態把握に利用できる簡易な実験教材の開発とその利用について述べたものである。水の濁りには環境の形態に関する様々な情報が含まれており、濁りの実体を調べるための分析装置として濁度・クロロフィル濃度計を自作した。この自作装置は、濁度測定、塩化物イオンの定量、クロロフィル蛍光強度の測定が可能で、水中浮遊性物質の分析に活用することができる。

Key words : 環境科学実験、水環境の実態把握、濁度分析、光散乱蛍光分析

1. はじめに

水質分析には、一般法や規格 (JIS) 法など種々の方法が確立されている¹⁾。正確な水質指標値を導くために高度な分析技術を用いるものが多く、学校の環境学習に利用するためには方法の工夫が必要である。著者らはこれまで、学校の生徒が水環境学習に利用できる迅速で簡単な分析法を検討してきた²⁾⁻⁸⁾。本論文では、教材として利用可能な水質の簡易分析法を開発する一環で、学校の水質調査でよく取り上げられる水中の浮遊性物質 (濁りの原因となる水中に存在する物質) に着目し、水の濁度、塩化物イオン濃度、懸濁態の原因となる植物プランクトンから抽出したクロロフィル量を求めるための視認性 (区別や変化の読み取りが容易な) を重視した簡易装置づくりとその利用について述べる。

2. 水の濁り

天然水の濁りには、図1に示すように、環境の実態について様々な情報が含まれる^{3),4)}。水中に懸濁している不溶性の浮遊物質 (Suspended Solids: SS) は粒子状浮遊性物質 (懸濁態) と呼ばれ、通常、粒径 (微粒子の直径) がおよそ $1\mu\text{m}$ 以上で 2mm 以下の物を指す。孔径が $1\mu\text{m}$ (あるいは $0.45\mu\text{m}$) のフィルターで通過した、孔径のサイズに近い成分を溶解性浮遊物質 (溶存態) と呼ぶ。サイズが 2mm 以上の物は粗大物や固形物と呼ばれ浮遊性物質と区別される。通常、ろ布等の粗い目のフィルターで粗大物を除いた天然水を $1\mu\text{m}$ 程度の孔径をもった硝子フィルターでろ過し、フィルターに付着し残った部分を懸濁態成分とし、ろ液を溶存態成分とし、それぞれの成分について特性を調べる。

浮遊性物質には、粘土鉱物に由来する微粒子、動物プランクトンとその死骸、下水や工場排水に由来す

* 宮城教育大学教育学部理科教育講座
** 宮城教育大学教員キャリア研究機構
*** 宮城教育大学教職大学院

る有機物や金属の沈殿物等がある。通常の河川に見られる濁りの主体（懸濁態）は風化した粘土鉱物であるが、河川の流れとともに、生態系に由来した難水性の有機物等が懸濁態へ混入してくる。

水中における浮遊性物質の量の増加は、水の透明度を低下させ、濁度の大きい水環境では、水の腐乱化も促進される。さらに、停滞性の沼やため池においては浮遊性物質の蓄積・沈降により、底生生物の埋没（ヘドロ増加）や水の二次的汚染を引き起こす。それゆえ、水の濁度を定期的に追跡することは、水環境の実態と特性（水中生物による生物生産と分解、有機汚濁、富栄養化）に基づく水質改善等の検討に役立つ。

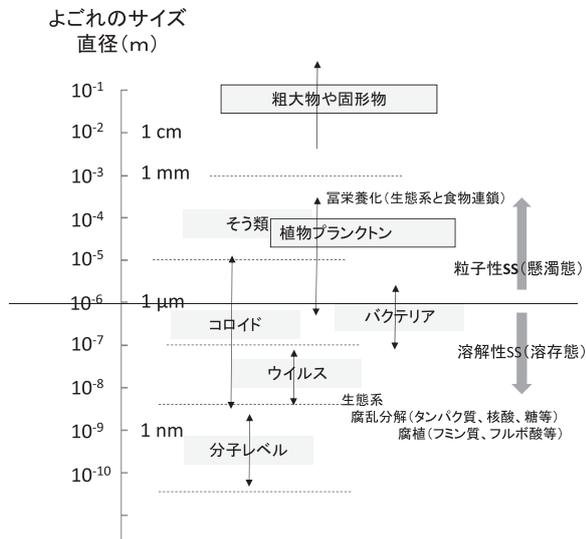


図1 水中の懸濁態と溶存態
SS：浮遊性の固体 (Suspended Solids)
よごれのサイズとろ過(孔径)

- ・硝子フィルター (Glass Filter/Fine: GF/F, 孔径約1μm)
- ・セルロース紙(定性) 孔径 数μm ~数十μm
- ・メンブレンフィルター 孔径 0.2μm 0.45μm etc

3. 簡易装置の製作

本研究では、溶存態に含まれる濁り成分（コロイド、粘土微粒子、未分解腐植物質等）の濁度を測定でき、加えて、懸濁態（植物プランクトン）よりクロロフィルを抽出してクロロフィル蛍光を測定できる装置を製作した。

濁度を測定する方法には、純水で希釈した試料水（希薄な濁度溶液）に、特定の波長領域の光を入射し、濁度成分による光吸収を測定する透過光測定法と、濁度成分によって散乱される光の強度を測定する散乱光

測定法がある⁹⁾。透過光測定法では、入射光が試料セルに当たって反射される光を除去し光束を絞込むために必要なスリットを光路上に置くなどの工夫も必要となるが、散乱光測定法では、入射光軸方向と異なる角度方向に検出器を置き、光路上の成分によって散乱される光の強度を測定するため、光路上にスリットを置く必要はなく、より簡易な装置をつくることができる。本研究では、散乱光測定法の簡易装置づくりを進めた。この装置は、光源光として紫外光を採用し、入射光軸を含まない方向からの光検出なので、クロロフィル蛍光の強度も測定でき、水の富栄養化状態を調べる道具としても活用できる。

3-1. 濁度・クロロフィル濃度計の製作

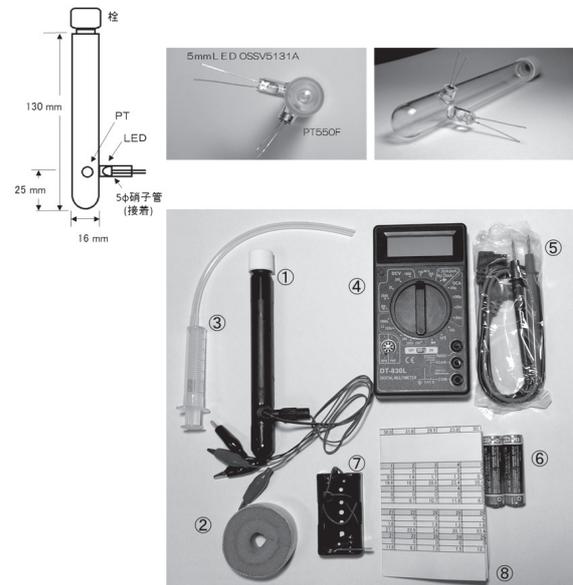


図2 濁度・クロロフィル濃度計(教材セット)
LED：発光ダイオード、紫(紫外線)

- 5mmLED OSSV5131A (akizukidenshi)
- PT：フォトトランジスター、PT550F (SHARP)
- ①濁度・クロロフィル濃度計 ②セルホルダー ③試料用シリンジ (5mL)
- ④光検出用デジタルマルチメーター (200μA) ⑤ケーブル ⑥電源 (単3アルカリ乾電池×2個) ⑦スイッチ付電池ホルダー ⑧検量線データ (ホルマジン濁度、クロロフィル蛍光)
- その他(可変抵抗 0 ~ 500Ω:今回は使用しない)

光源として紫外発光ダイオード(LED:秋月電子、形式OSSV5131A)を用いた。このダイオードは発光ピーク波長が405nmで光の半値幅がおよそ25nmの高輝度ダイオードである。このLED光を懸濁液に当てると、LED光が懸濁成分によって散乱される。この散乱光の強度を測ることで懸濁態の濃度を求めること

ができる。一方、このLED光をクロロフィルのN,N-ジメチルホルムアミド(DMF)に当てると、クロロフィルに由来した蛍光(発光ピーク波長がおよそ670nmの赤色発光)を観測でき、蛍光強度を測ることでクロロフィルの濃度を求めることができる。

散乱光と蛍光の検出には、可視感光性(感光波長領域が400nmから1200nmで最大感光波長は800nm付近の赤色波長領域)のフォトトランジスター(SHARP製PT550F)を使用した。この光検出器は、近紫外・紫色の光領域に対する感光能は低いが、濁度が10度以下の水の散乱強度は4 μ A以下の光電流値として測定でき(デジタルマルチメーターの検出範囲(0.2A以上)になっている)、通常の天然水の実態把握に利用できる。

4. 装置の利用

4-1. 濁度の測定

公定法では、精製水(蒸留水)1Lにホルマジン1mgを均一に分散させた懸濁液の濁度を1度(1ホルマジン度)とし、濁りの程度を数値化する¹⁾。本研究では、市販のホルマジンの標準溶液(400度)を精製水(濁度0の水)で希釈し、濁度溶液の希釈列をつくった。通常の河川水や富栄養化していない湖沼水の濁度は、25ホルマジン度以下のものがほとんどなので、100度以下のホルマジン標準溶液について、濁度と散乱光強度の関係を調べた。図3はその結果を示したものである。精製水の光電流値は0.5 μ A程度(LEDへの加電圧が3.0Vの時)であり、これが装置のバックグラウンドとなる。25度の濁度溶液について、低輝度(LEDへの加電圧が3.0V)の入射光に対してフォトトランジスターで検出される散乱光強度は3 μ A、高輝度(LEDへの加電圧が3.6V)の入射光で検出される散乱光強度は14 μ Aとなり、自作装置を用いて高感度の測定が行える。

図2に示す教材キットを用いて、天然水を試料とした測定を次のように行う。

測定条件：図3参照

①ブランク測定(操作順)

1. 濁度・クロロフィル濃度計に蒸留水5mLをいれる。
2. LEDを点灯し、フォトトランジスターで検

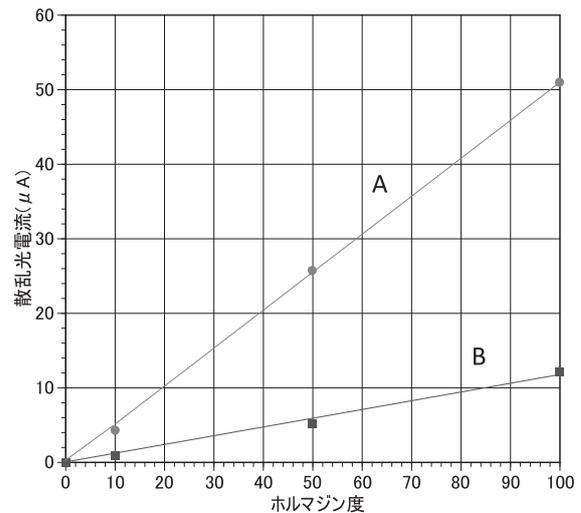


図3 散乱光電流とホルマジン濁度の関係

紫外LED：5mmLED OSSV5131A (akizukidenshi) ,
フォトトランジスター：PT550F (SHARP)

測定条件：

試料水 5.0mL

紫外LEDへの加電圧 A：3.6V B：3.0V

(電源：KENWOOD PR18-3A 可変式定電流定電圧装置)

フォトトランジスターへの加電圧 3.0V

(電源：安定化回路付可変 AC アダプター)

光電流計測：Z.W. Elec. DT830L デジタルマルチメーター

出される光電流(μ A)をマルチメーターで読む。このメーター値がバックグラウンド値となる。

②試料の測定(操作順)

1. 試料水(天然水)を孔径1 μ mの硝子フィルターでろ過し、ろ液5mLを装置に入れる。
2. ブランク測定と同様に、LEDを点灯して光電流(μ A)を読む。
3. この光電流値からバックグラウンド値(①の2)を差し引き、図3に示す検量線から濁度(ホルマジン度)を求める。

このように、濁度を求める実験操作は単純で、多数の試料水について短時間内で濁度測定ができる。図2に示す教材キットを用いた濁度測定は、塩化銀とデキストリン(Dx)からつくられる塩化銀-Dxコロイドによる濁り溶液についても測定でき、水溶液中に含まれる塩化物イオンの定量実験に応用できる⁸⁾。

4-2. 懸濁態中のクロロフィル分析

懸濁態は、閉鎖系水域の富栄養化・有機汚濁問題と関連して重要な分析対象である。水中へ供給される栄

養塩類の増加が、一次生産者（植物プランクトン）の発生と増殖をもたらし、水の富栄養化が促進される。富栄養化に伴って、水の透明度が悪化し、食物連鎖のかく乱及と水中生物による浄化能力が著しく低下していく。その結果、長期に渡って、水の腐乱化が起こることになる²⁾。このことから、天然水（特に停滞水域）中の植物プランクトン（懸濁態となる）の分析は必要である。

藻類（植物プランクトン）に由来した懸濁態の量は、捕集される植物プランクトンより抽出されるクロロフィル濃度に正の相関を示す。孔径1 μm の硝子フィルターで捕集した成分をN,N-ジメチルホルムアミド（DMF）にとかし込むと、植物プランクトンの細胞内のクロロフィルがDMF溶媒に溶出する。その結果、DMF溶液は透明な薄い緑色を呈する。この緑色溶液に紫外LED光を入射すると、溶液中の入射光路に沿って赤色のクロロフィル蛍光（発光ピーク波長670nm）が観測される。

自作装置の光源LEDは波長が405nmに強い強度をもつために、クロロフィルaとクロロフィルbの両成分がLED光により励起する。観測されるクロロフィル蛍光は両成分に由来したものである。自作装置では、蛍光強度から各成分濃度を求めることはできないため、クロロフィルa濃度と蛍光強度（ μA ）について次のように検量線を求めた。

緑葉（シロツメクサ）1gを乳鉢に入れ、アセトン・メタノール（3:1v/v）でクロロフィルを抽出し、抽出液をペーパークロマトグラフィー（ペーパー：ペーパークロマト用ろ紙No50（ADVANTEC）、展開液：石油ベンジン・アセトン（8:1v/v）を使用）で、クロロフィルa（緑色部）部を分取し、クロロフィルaのDMF溶液をつくる。クロロフィルaの濃度は、P.J.Porra（1989）¹¹⁾の方法に従って分光学的に求めた。このようにして濃度決定されたクロロフィルa溶液を標準溶液として、クロロフィルa濃度が0から100 $\mu\text{g/L}$ の溶液列をつくり、蛍光強度とクロロフィルa濃度との関係を調べた。その結果を図4に示す。クロロフィル蛍光強度は低濃度のクロロフィル溶液では、濃度と比例関係を示す。また、図4からも分かるように、入射光の輝度については、高輝度（加電圧3.6V）の場合は低輝度（加電圧3.0V）の場合に比べて約10倍程度感度がよくなる。しかし、クロロフィルは紫外線で分解し

やすく、安定した状態でクロロフィルを定量するためにはLEDの輝度は可能な限り低い方が望ましい。

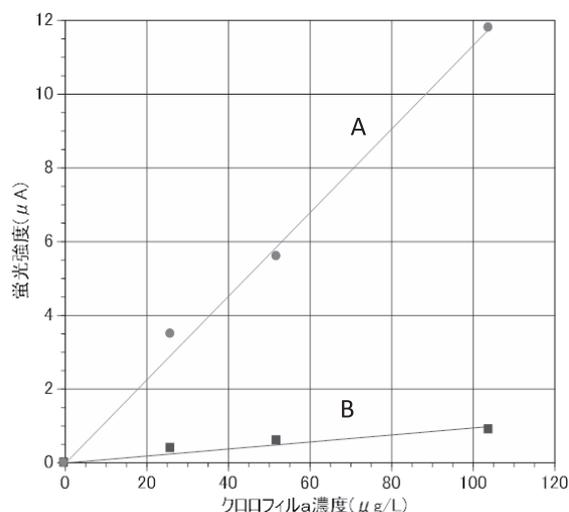


図4 蛍光強度とクロロフィルa濃度の関係
紫外LED：5mmLED OSSV5131A (akizukidenshi) ,
フォトトランジスター：PT550F (SHARP)

測定条件：
試料水 5.0mL
紫外LEDへの加電圧 A：3.6V B：3.0V
（電源：KENWOOD PR18-3A 可変式定電流定電圧装置）
フォトトランジスターへの加電圧 3.0V
（電源：安定化回路付可変 AC アダプター）
光電流計測：Z.W. Elec. DT830L デジタルマルチメーター

5. さいごに

本研究は、淡水性の水域（ため池や河川）の実態を探求する方法を提案するものである。水の濁りに着目し、濁りに含まれる様々な成分の分析から、自然の実態を調べる教材である。

自作した濁度・クロロフィル濃度計の利用においては、光源であるLEDの輝度を変えることで、測定対象をコロイド分散系などに拡張でき、天然水中のイオン分析（塩化物イオンの定量分析）も可能となる。また、クロロフィルの蛍光測定によって、水の富栄養化の動態を定量的に追跡することができ、生態系を含めた水環境の理解に役立てることができる。

本研究で製作した教材キットは、宮城県高等学校理科研修会（H29.9.27, 宮城県総合研究センター、テーマ：環境の実態把握のための簡易分析装置の製作と活用方法、25名参加）において、学校関係者へ提供された。学校における探求活動での活用が期待される。

参考文献

- 1) 工場排水試験法 (JIS K0102:2013)
- 2) 三品佳子・三好直哉・村松隆, 2013, ため池水中の溶存態有機物の分画と同定に関する実験法の開発, 環境教育研究紀要, 15, pp.49-55.
- 3) 三品佳子・三好直哉・村松隆, 2014, ため池水中の溶存態有機物の分画と同定に関する実験法の開発 (II) - 腐植物質の物性評価に関する簡易実験法 -, 環境教育研究紀要, 16, pp.1-6.
- 4) 三品佳子・三好直哉・村松隆, 2015, 閉鎖性ため池の有機汚濁バックグラウンド評価に関する実験法, 環境教育研究紀要, 18, pp. 63-71.
- 5) 三品佳子・加藤慎也・村松隆, 2015, 視認性を重視したサイエンス教材の開発 (1) - 二酸化炭素の発生と性質に関する実験, 環境教育研究紀要, 17, pp.73-80.
- 6) 三品佳子・加藤慎也・村松隆, 2016, 視認性を重視したサイエンス教材の開発 (2) - オゾンの発生と性質に関する実験, 環境教育研究紀要, 18, pp.19-24.
- 7) 三品佳子・加藤慎也・村松隆, 2016, 有機汚濁と濁度の相関評価のための実験法の検討 - 水の濁りを観測するための簡易装置づくりとその利用 -, 環境教育研究紀要, 18, pp. 25-28.
- 8) 三品佳子・加藤慎也・村松隆, 2017, 塩化銀濁度分析法を用いた天然水中塩化物イオンの簡易定量法, 環境教育研究紀要, 19, pp.33-38.
- 9) 並木博, 2008, 詳解工場排水試験方法解説, 日本規格協会.
- 10) R.J.Porra, W.A.Thompson and P.E. Kriedemann, Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying chlorophylls a and b extracted with four different solvents: verification of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy, *Biochimica et Biophysica Acta*, vol. 975, pp. 384-394 (1989).

(平成29年9月29日受理)