

大阪府立大手前高等学校

2010 年度
サイエンス探究
研究報告書

目次

生物分野

1. パーフェクトアクアリウムの作成
高堂愛子 坂口温美 治部早智子 西野由樹子 藤井友香 吉本咲希
2. 植物の抗菌効果について
伊勢綾香 長田奈幹 秦奈津実 松本美穂 山下まり子
3. 葉緑体の研究
由比直樹 吉田将也 中村大樹 河岸良承
4. 金属イオンが生体に及ぼす影響
齊藤惇基 武智大喜 平田博一 廣瀬江祐 宮内大輔
5. 表皮常在菌の研究
青木健悟 中原健人 山崎大地
6. 果実中のタンパク質分解酵素活性の比較
平山 智章
7. スルメイカ筋肉の解糖系酵素 **Glycogen Phosphorylase b** の部分精製とその性質
秋月悠一 石亀貴欣 大前一若 尾崎友彦 千田真彰 山岡優
8. プラナリアの再生と光の影響
幸寺健悟 畑翔太

化学分野

1. 食品を使った実験
高木将幹
2. 虫菌のモデル化 リン酸カルシウムの酸による侵食
小山悠也 山下雄紀 後藤拓也
3. 風化のメカニズムを探る
丹羽 萌子
4. **The Relationship of Nitro-Products Between Soil And Soil Water**
Natsuki Kawamoto, Kazumi Kosaka, Shino Kozuki, Mari Saiga, Zhang Hanlu
5. 蛍光
川瀬裕基 田中智章 山田晃弘 町田真直
6. 食品に含まれるソルビン酸の調査
山田咲子 治部晶子
7. 銅イオンの還元を利用した色ガラスの作製
勝本匡博 小西保彰 長宮大輝

物理分野

1. アナログ JK-FF の製作と性質

菅原悠馬 池田敦俊 亀山亮平

2. 音波

佐藤拓朗 笠松郷志 白川拓人 坪内博希

3. スポーツ物理

石井良平 今井康貴 浦谷啓太 木嶋優斗 村田勇樹

4. 二重振り子

馬越茉鈴 太田由理 辻井浩希 中打木駿 中曽根義之

5. CPU を創ろう

北村優佳 竹本有紀 中尾優花 川原匡史 川本雄士 阪下真紀 佐藤和叶
瀬口友介 月本弾 中司慎太郎 花盛敬輝 南出大輝 山本文迅

パーフェクトアクアリウムの作成

高堂愛子 坂口温美 治部早智子 西野由樹子 藤井友香 吉本咲希

1. 緒言

私たちが今暮らしている地球は、約 46 億年前に誕生したといわれている。生命が発生したのは、その約 6 億年後のことと考えられており、今日に至るまでの長い間、地球上では様々な出来事が起こり、そして今私たちはここにいるのである。地球誕生からこれまでに、氷期の到来、隕石の落下等、自然の力による大きな変化が繰り返し起こってきた。その中で、原核生物の誕生から始まり、光合成を行う生物が発生し、酸素の存在する地球環境が成立した。更に様々な種類の生物の出現、進化が起こり、私たちが今ここに存在しているのである。この長い歴史無くしては、私たちの存在は語りえないのである。現在、このような長い歴史を経て自然の力によって培われてきた地球環境の中でわれわれ人類は、誕生して以来様々な文明を起し、進化し、豊かな生活を作り上げてきた。しかし同時に、地球温暖化、大気汚染、水質汚染等の様々な地球環境問題が生じ、生物多様性の減退、生態系の崩壊が進んできている。今や地球環境問題は、人類に課された最重要かつ至難の問題であると考えられる。

私たちはこの複雑な環境の中で生きる生物について興味を持ち、生物界における様々な生命活動の仕組み、生物環境についての理解を深めたいと思った。そこで、生態系のメカニズムを解明し、パーフェクトアクアリウムを作成することをテーマに今回の研究に取り組んだ。ここでいうパーフェクトアクアリウムとは、水生生物を入れた容器を密閉し、餌やりや水の入れ替えなどの外界からの接触を一切行わない、完全なる孤立型のアクアリウムを指す。このパーフェクトアクアリウムが作成できれば、生態系に関する模範的な教材として活用することができる。更には、今後の地球環境の変化に対して何らかの予測を立て、それに対する対応を考えていく上での一助になるのではないかと考え、私たちは今回の研究を進めた。

非常に複雑なこの生物界は、生産者、消費者、分解者が様々な面で互いに影響を及ぼしあって成立している。私たちはまず、生態系のメカニズムを解明する第一歩として、生産者と消費者の関係について考えることにした。前者にオオカナダモ、後者にメダカを取り上げ、それらによる、生命活動において重要な役割を果たす酸素、リン酸の循環について調べ、水槽内のオオカナダモとメダカによる酸素、リン酸の循環を成立させることを目的として研究を行った。オオカナダモは安価で手に入れやすく、極めて丈夫で幅広い適応力を備えており、またメダカも生命力が強く、我が校の中庭でもたくさんのメダカが元気に泳いでおり、比較的飼育が容易であることから、この二者を選択した。

アクアリウム内での、水草の光合成による酸素変化量に関しての松田らの測定法*では、気体中の酸素量増加の確認しかできていなかった。溶存酸素計を使用しての測定法では、水中の酸素増加量のみしか測定することができず、また測定時に空気中の酸素が溶け込んでしまい、正確な溶存酸素変化量を測りとることができない。そこで私たちは、水草の呼吸・光合成による酸素変化量を水中と気体中の両方から正確に測りとり、アクアリウム内における全体の酸素変化量が測定できる測定法を確立した。そして、その測定法で異なる温度下におけるオオカナダモの光合成・呼吸による酸素変化量を測定することができた。

今回の研究は、オオカナダモとメダカによる酸素とリン酸の変化量をより正確に測定する方法を確立すること、その測定法による測定において得られた結果をもとに、オオカナダモとメダカが共

存するための割合の最適値を算出することを主たる目的として実施した。

2. 実験手順

2. 1 オオカナダモの酸素消費量・排出量の測定

3本の2Lペットボトル(A, B, C)を用意し、それぞれの底面にキリで穴を1つあける。穴はビニールテープでしっかりふさぎ、各ペットボトルに以下の通り試料を入れたあと、ペットボトル内を水道水で満たして密閉する。このとき、Bのペットボトルをアルミホイルで完全に覆い、光を遮断した。

A: オオカナダモ<*Egeria densa*> (教具店) 40 g

炭酸水素ナトリウム(キシダ化学, 一級) 8.0 g

B: オオカナダモ 40 g

炭酸水素ナトリウム 8.0 g

C: 炭酸水素ナトリウム 8.0 g

最初にA, B, Cそれぞれのペットボトルの溶存酸素量をはかった。これらのペットボトルを気温25℃, 照射時間を6時から18時の12時間に設定した卓上型人工気象器(LH-55-RD/日本医化器械製作所)内に一定時間放置した後、ペットボトル内に溜まった気体を底の穴から水上置換で試験管に収集し(Fig.1), さらにペットボトル内の水をサイフンの原理でビーカーに取り出した。その後デジタル溶存酸素計(FUSO(株), DO-5510)を用いて水上置換で得た気体の酸素濃度と、ペットボトル内から取り出した水中の溶存酸素濃度を測定した。このとき水上置換で得た気体を、メスシリンダーを用いて体積を測定した。同様の実験を人工気象機の気温設定を20℃, 28℃とし、計3回行った。

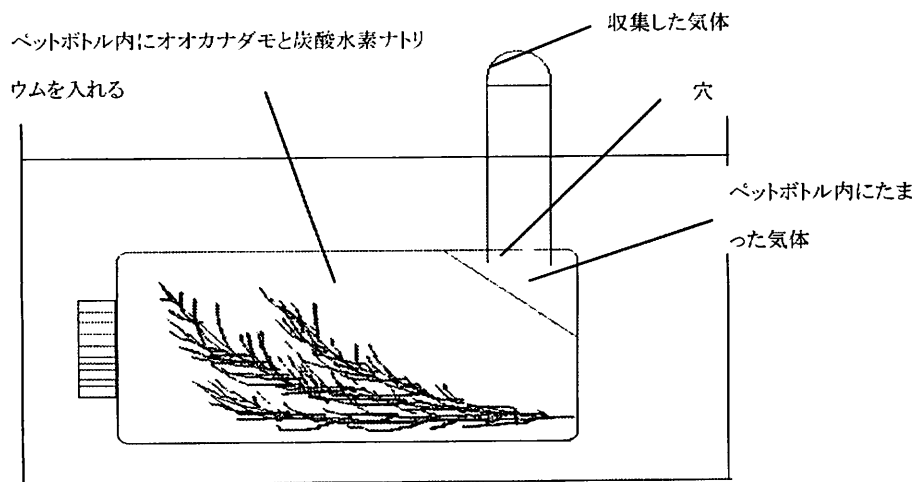


Fig.1 ペットボトル内の気体を水上置換で収集

2. 2 オオカナダモのリン酸排出量, 消費量の測定

ふたのついたビンを3つ用意してそれぞれ以下のように試料を入れた後、水を900 ml 注いで閉じる。

A: オオカナダモ 14 g, リン酸カリウム 3.8 mg (キシダ化学, 一級)

B: オオカナダモ 14 g

C: リン酸カリウム 3.8 mg

これらを日のあたる窓際に放置し、2日毎にデジタルパックテスト・マルチ(共立理化学研究所(株),

DPM-MT)を用いて、リン酸のパックテスト(共立理化学研究所(株), 低濃度)を行った。

2. 3 メダカの酸素消費量の測定

ヒメダカ<*Oryzias latipes*>(教具店)10匹, 500 ml 三角フラスコ, ヒーター(EVERES/PRESET100AUTO HEATER)を用いて Fig.2 のような装置を製作した。三角フラスコはラップで蓋をして, 空気が入らないようにゴム栓をラップの上に置き, 輪ゴムでラップをフラスコごと縛った。温度は 25 °C に保ち, 空気が入らないように注意しながら溶存酸素メーター(HORIBA/OM-51)を用いて, 溶存酸素量を測定した。実験は初期状態をはかった後, 1 時間ごとに 2 回測定した。

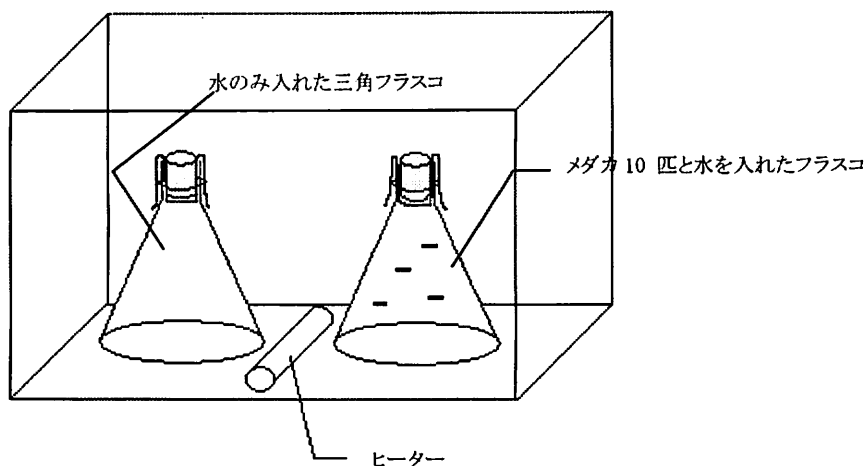


Fig.2 メダカの酸素消費量を測定するセット

2. 4 メダカのリン酸排出量の測定

ヒメダカ<*Oryzias latipes*>(教具店)9匹, ヒーター(EVERES/PRESET100AUTO HEATER), ガラス容器 2 つを用いて Fig.3 のような装置を製作した。温度を 25 °C に保ち, メダカのガラス容器 (A) には市販の餌テトラフィン(テトラジャパン)を毎日 0.02 g ずつ与え, 放置した。水中のリン酸量をデジタルパックテスト, マルチ(共立理化学研究所(株)/DPM-MT), リン酸パックテスト(共立理化学研究所(株)/低濃度)を用いて 6 日間測定した。

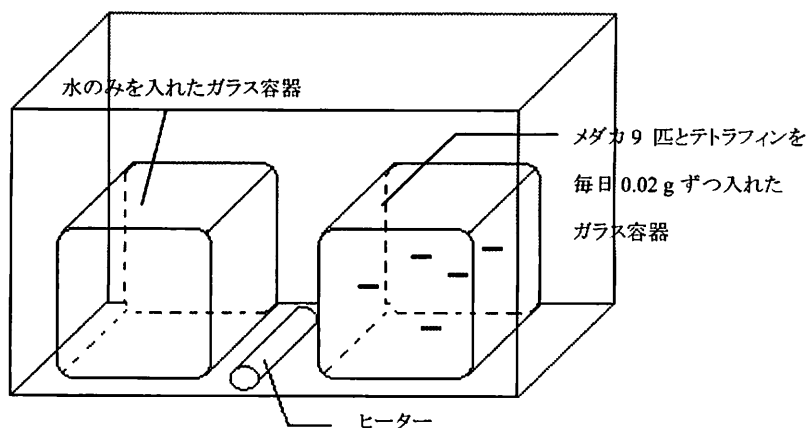


Fig.3 メダカのリン酸排出量を測定するセット

3. 実験結果

3. 1 オオカナダモ実験結果

オオカナダモによる酸素消費量・排出量の実験結果を Table 1 に示す。これは 20 ℃, 25 ℃, 28 ℃ のときのペットボトル A,B,C それぞれの状況下における酸素排出量を 1 時間あたりに換算して表したものである。Table 1 のそれぞれの変化量を見ると、いずれの温度の時も A では酸素を排出、B では酸素を吸収し、C ではわずかに吸収しているがあまり変化していないことが分かる。

次にオオカナダモによるリン酸量の変化の実験結果を Table 2 に示す。表の左側は 2 日ごとに測定した水中のリン酸量、中央はその変化量、右側はそれを 24 時間あたりに換算したものを示している。この表から水中のリン酸の量は日数の経過と共に減少しており、オオカナダモがリン酸を吸収していることが分かる。

Table 1 オオカナダモ(40 g)による 1 時間あたりの酸素排出量

20 ℃	A	B	C
気体中	+4.31 mg		
水中	+1.40 mg	-1.02 mg	-0.11 mg
総量	+5.71 mg		
25 ℃	A	B	C
気体中	+5.28 mg		
水中	+1.47 mg	-1.32 mg	-0.44 mg
総量	+6.75 mg		
28 ℃	A	B	C
気体中	+6.27 mg		
水中	+0.50 mg	-1.16 mg	-0.47 mg
総量	+6.77 mg		

Table 2 オオカナダモ(14 g)による水中のリン酸量の変化

	リン酸量 (mg/L)	変化量 (mg/L)	24 時間あたりの 変化量 (mg/L)
1 日目	3.20		
2 日目	2.88	-0.320	-0.171
3 日目	2.48	-0.400	-0.190
4 日目	2.01	-0.470	-0.233

+は酸素を排出したこと、-は酸素を吸収したことを表す。尚、斜線は収集された気体の量が微量であったため、気体中の酸素濃度が測定不可能であったことを示し、そのため総量も正確な値が出ないので斜線で表す。

3. 2 メダカの実験結果

メダカによる酸素消費量の実験結果を Table 3 に示す。これは 1 時間ごとに測定で出た値を 500 ml 中に溶存していると考え換算した値の差をとったものと、メダカを入れていない場合と入れている場合の差の平均を示したものである。Table 3 の変化量を見ると、メダカを入れていない場合はあまり変化していないが、メダカを入れていた場合は入れていない場合と比較して大きく減少していることがわかる。また、測定時には一時的に密閉状態ではなくなるが、そのときに出入りする酸素の量はごく少量であると考え、実験への影響を無視できると考えた。

次にメダカによるリン酸量の変化の実験結果を Table 4 に示す。この表から水中のリン酸量は、初めは目立った変化は見られないが、徐々にリン酸量が増加していつていることから、メダカがリン酸を排出していることがわかる。

Table 3 メダカ(10 匹)による 1 時間あたりの酸素消費量

	メダカなし	メダカあり
1 回目	-0.455 mg(19 °C)	-1.19 mg(23.4 °C)
2 回目	+0.0850 mg(16.6 °C)	-2.02 mg(16.7 °C)
平均	-0.185 mg(15.5 °C)	-1.60 mg(16.5 °C)

Table 4 メダカ(9 匹)による水中のリン酸量の変化

	リン酸量(mg/L)	変化量(mg/L)
1 日目	0.1	
2 日目	0.10	0.0
3 日目	0.10	0.0
4 日目	0.57	+0.47
5 日目	0.11	-0.46
6 日目	0.18	+0.070
7 日目	0.78	+0.60

4 考察

4. 1 オオカナダモの酸素排出量について

Table 1 中の A ではいずれの温度の時もオオカナダモは酸素を排出し、B では酸素を吸収していた。また C でもわずかに水中の酸素は減少していたが、これは測定時に生じた誤差と考え、ほとんど変化しなかったものとする。この結果から A での酸素の排出はオオカナダモの光合成によるものであり(A では呼吸も行われているが光合成量が呼吸量を大幅に上回っているため酸素量は増加すると考える。)B での酸素の吸収はオオカナダモの呼吸によるものと推測した。また排出された酸素の総量は A において 25 °C~28 °C で多くなっており、このあたりの温度で光合成が活発に行われているとわかった。この結果をふまえてオオカナダモ、メダカが共存できる水温である 25 °C のときでのオオカナダモの酸素排出量と呼吸量を日光のあたる時間、当たらない時間がそれぞれ 12 時間と考えて計算すると、

酸素排出量 $6.75 \times 12 = 81.00$ (mg)

呼吸量 $1.32 \times 12 = 15.84$ (mg)

よってオオカナダモの 1 日あたりの酸素排出量は(81.00-15.84=)65.16 mg とした。

4. 2 メダカの酸素消費量について

メダカを入れていない三角フラスコの溶存酸素量が減少したのは、温度変化によって飽和溶存酸素量が増えた、または実験結果にも書いたとおり、測定時に生じた誤差と考えた。この誤差はメダカを入れていた三角フラスコでも同様に出ているものと考えて、メダカを入れた三角フラスコで溶存酸素量が減少したのは、全てメダカの呼吸によるものと推測した。(Table 1)の結果より、メダカの酸素消費量は日中夜中問わず一定のものとして、1 時間の平均値を 24 倍させた 24.18 mg を 1 日の酸素消費量とした。

この結果から酸素に関して、メダカとオオカナダモが共存するための割合の最適値を出すと、メダカ：オオカナダモ=10 匹：12.12 g となる。

4. 3 オオカナダモのリン酸吸収量について

オオカナダモの場合は予め入れておいたリン酸カリウム由来のリン酸濃度が減少傾向にある。また同時におこなっていた対照実験では水中のリン酸濃度が変化しなかったことから、これはオオカナダモの成長にリン酸が必要なためと考えた。オオカナダモの実験は人工気象器により昼と夜の時間を 12 時間ごとに設定しているため、光合成と呼吸のいずれも行っている。よって、密閉された容器内で成長し得ると考えた。オオカナダモが吸収したリン酸は、成長する際に核酸とリン脂質の一部として使われ、また、生命維持活動のための ATP の一部にも使われたと考察した。しかし、実際に成長したかどうか調べるためのオオカナダモの質量の測定は実験前後共に行っていないため、あ

くまで可能性の一つとして考察を進めた。実験中、リン酸濃度はほぼ毎回減少しているの、オオカナダモのみ入れた水中ではリン酸濃度が単純に減少し続けると推測した。そこで、実験のデータをもとに平均をとってオオカナダモが 1 日あたりに吸収するリン酸量を求めると 0.198 mg/L となった。

4. 4 メダカのリン酸排出量について

メダカのいる水中でリン酸濃度が上がるのは、メダカの排泄物からリン酸が水中に溶け、濃度が増加したものと推測した。メダカは水中のリン酸を直接消費することはできないので、オオカナダモを入れずに、メダカとそのえさとなるものだけを入れた水中では、リン酸濃度は単純に大きくなり続けると推測した。そこで、実験のデータをもとに平均をとってメダカが 1 日あたりに排出する量を求めると、0.136 mg/L となった。

この結果からリン酸に関して、メダカとオオカナダモが共存するための割合の最適値を出すと、メダカ：オオカナダモ=10 匹：10.68 g となる。

これらのことをまとめると、メダカとオオカナダモは

酸素に関して、 10 匹：12.12 g

リン酸に関して、 10 匹：10.68 g

の割合で共存すると考察した。

5. 結論

私たちは今回行った実験によって、酸素については、水草とメダカの変化量の測定法を確立し、メダカの呼吸量、水草の光合成による排出量を調べることができた。またリン酸については、水草の光合成に伴うリン酸吸収量、メダカの飼育に伴うリン酸濃度の上昇が分かった。しかし、今回の実験で生産者と消費者の関係について調べることはできたが、分解者を調べることはできなかった。その結果、分解者という存在を無視して考えてしまい、さらに酸素とリン酸だけに注目した消費者と生産者のバランスを計算したので、生産者と消費者の正確な割合を出すことはできなかった。よって初めの目標であった消費者・生産者・分解者それぞれの調査と、生態系のメカニズムの解明には及ばず、パーフェクトアクアリウムの作成には至らなかった。

だが、今回行ってきた様々な実験による、今まで知らなかったメダカと水草の生態系についての発見から、自然の中でこれほど多くのことが複雑に関係しあって生態系が成立しているということがわかり、改めて感銘を受けた。

今後、もしこのような実験を行う場合には、より正確な呼吸量また無機塩類の測定法の確立、同じ実験を繰り返し行って結果の平均値をとること、リン酸や酸素以外のことから生産者と消費者のバランスの割合を出すことによって、生態系の関係性をより詳しく調べたい。

6. 参考文献

*松田仁志, (2008):光合成による気体発生と酸素の確認, 大阪府高等学校生物教育研究会誌, 36

7. 謝辞

安井先生をはじめ高木先生、福野先生、及び生物科の先生方、助言またご指導いただき本当にありがとうございました。

植物の抗菌効果について

伊勢綾香 長田奈幹 秦奈津実 松本美穂 山下まり子

1. 緒言

植物には細菌の繁殖をおさえるものがあるということはよく言われている事である。桜餅が桜の葉で包まれているのは、桜の葉に含まれるクマリンという成分が抗菌作用を持つといわれているからである。他にもラベンダーやチョウジやシソには抗菌作用があり、またシソ科の植物には除虫効果や抗菌作用があるものが多いことが知られている。パセリは紀元前から香辛料や薬品として利用されてきた。パセリ独特の芳香成分アピオールには、有害細菌の繁殖を抑えるなどの解毒作用があるとされている。緑茶に多いエピガロカテキンガレートというカテキンには強力な殺菌作用があると考えられている。また紅茶にも抗菌作用があると考えられ、のどが痛む風邪のときは紅茶でうがいをするという人もいる。

そこで私たちはこのように昔から抗菌作用があるとされていたり、体にいいと言われている植物には抗菌作用が見られるだろうという仮説を立て、またその抗菌作用がその植物に固有に含まれている成分の働きにより見られたものであるのなら、その pH を変化させ、無機物である酢酸の同じ pH のものと比較することによって抗菌作用がその植物に含まれる成分によるものなのか知ることができると考えた。

ガスピタンとは、フェカリス菌、アシドフィルス菌、ビフィズス菌の三種類の菌が含まれた薬剤である。そのうちのフェカリス菌、アシドフィルス菌は通性嫌気性菌といい、酸素の存在下でも生育可能な菌であり、ビフィズス菌は偏性嫌気性菌といい酸素の存在下では生育不可能な菌である。ポテト寒天とは乳製品中や加工肉の表面に生じた酵母、糸状菌の分離と菌数計算用に適した寒天培地であり、プレートカウント寒天とは乳製品中の生菌数算定で信頼性が得られるという特徴の寒天培地である。また LA 培地とは乳酸菌の検出に優れており、乳酸菌が存在すると、青紫色から黄色に変色する培地である。双目光学顕微鏡で観察したときに菌は一般的に死亡すると破裂するため、菌が見当たらない状態を「死滅」、姿は確認できるが動きが停止している状態を「停止」、二個または二個以上の菌が連結している状態を「連鎖状の菌」とする。また「菌が多い」というのは双目光学顕微鏡で観察したときに画面の全体にまんべんなく存在している状態のことをいい、「少ない」とは数えられる程度しか存在していない状態を指す。アルコール抽出実験はトウガラシには水に不溶性のカプサイシンと水に可溶性のカプサイシンが含まれているのでそれらを抽出するために行った実験である。また、ペーパーディスクとは直径が 8 mm 程度のろ紙のことである。

この研究の方針はまずこの実験に適切な菌の培養方法を確認したうえで、抗菌作用をもつと言われている身の回りの植物は実際に抗菌作用を持つのか調べ、さらに pH を変化させての抗菌作用の変化を比較することにより、抗菌作用の原因を知ることである。またそれに付随してガスピタンに含まれているフェカリス菌、アシドフィルス菌、ビフィズス菌の三種類の菌を双目光学顕微鏡で観察することである。

この実験の特色は pH を変化させての比較実験を行ったことである。この実験を行うことにより確認された抗菌作用がその植物特有の成分の働きかけにより起こったものなのか、または pH の影響により生じたものなのかを知ることができるのである。また身の回りにある植物を用いて実験を行ったことも特色のひとつである。

この実験のアピールポイントは、pH を変化させることにより比較実験を行い植物に含まれるな

んらかの成分が抗菌作用に影響したのかどうかを調べたということである。また複数の種類の菌を含む薬剤を使用することによってそれぞれの菌への抗菌作用の効果の違いを比較することができるということである。

2. 実験手順

始めに菌を培養する寒天培地を作った。今回の実験では、①Potato dextrose agar for microbiology (MERCK, 1.10130.0500) (以下、ポテト寒天とする。), ②Plate count agar (MERCK, 1.05463.0500) (以下プレートカウント寒天とする。), ③LA 培地 (プリマハム, LA 培地 P1111-5) の三種類の寒天培地を用いた。①②の寒天培地については、ポテト寒天 19.5 g あるいはプレートカウント寒天 11.25 g を電子天秤 (ザルトリウス株式会社) で量り取り、ガスバーナーで 60 °C に加熱した 500 mL の蒸留水に加え、ガラス棒で混ぜる。この寒天溶液をシャーレ (株式会社相互理化学硝子製作所) に深さ 1cm ほど流し入れ、蓋をして自動式高圧蒸気滅菌機ラボ・オートクレーブ (三洋電機バイオメディカ株式会社, MLS-3020) で、滅菌処理を施した。

LA 培地については、LA 培地用粉末 25.9 g とツイーン 80 (キシダ化学株式会社) 0.10 g を 80 °C の蒸留水 500 mL に加え、ガラス棒で混ぜた。この液を植物培養試験管 ((株)相互理化学硝子製作所, 容量 50 mL) に 3 分の 2 ほど流し入れ、自動式高圧蒸気滅菌機ラボ・オートクレーブで、滅菌処理を施した。また、菌の培養は、ヒーター式インキュベーター (三洋電機株式会社, MIR-162) 内で行なった。

次に培養する菌について考えた。なお以後の実験では、蓋を開けるときは必ずガスバーナーで上昇気流を作り作業を進めることとした。また、器具などは、60 %エタノール (1 級, キシダ化学株式会社) で消毒するか、ガスバーナーで熱消毒することとした。

最初に考えたのは、空気中の菌を利用することだった。空気中の菌を採取するため上記の方法で作ったポテト寒天培地を教室、廊下、手洗い場、更衣室、トイレの 5 カ所に 3 時間ふたを開けて放置した。このときによく滅菌効果があるといわれている茶は、抽出済の市販の緑茶 (商品名:伊右衛門, サントリーフーズ(株))と、茶葉(品名:煎茶, 原材料名:緑茶(静岡県産), 発売元:(株)あすからいふ倶楽部MY)の二種を用いた。これらを染み込ませたペーパーディスク (GRADE ペーパーディスク 抗生物質検定用, size:厚手 8 mm, Toyo Roshi Kaisha,Ltd) を置いたシャーレも作り、同様に放置した。

次に考えたのは乳酸菌を含む製品、ヨーグルト (ダノン BIO, ダノンジャパン株式会社) とガスピタン (ガスピタン α , 製造元:小林製薬会社, 製造販売元:明治薬品株式会社) に含まれる乳酸菌の利用だった。ヨーグルトは、15 g を常温の蒸留水 15 mL, 常温の茶 (ペットボトル) 15 mL でそれぞれ溶かし、ポテト寒天培地に流し込んだ。ガスピタンは、1 錠を粉末状にし、40 °C の蒸留水 15 mL, または 40 °C の茶 15 mL に溶かし、同様にポテト寒天培地に流し込んだ。

その後、植物を用いて実験を進めた。実験①は、試料の植物に、トウガラシの実、ハッカの葉、ササの葉を用いた。これらの植物を水道水で洗い 60 %エタノールで消毒した。その後、ハサミで切ったり、乳鉢ですりつぶしたりして細かくしたものを、ガスピタンから抽出した菌を培養してあるプレートカウント寒天の上に直接乗せ、ヒーター式インキュベーターに入れ培養した。

実験②は、試料の植物 (ハッカ, ササ, アロエ, トウガラシの実, ヒガンバナの球根, 白ネギ, 青ネギ, ドクダミ, コーヒー, カラシ, 茶) を、水道水で洗い 60 %エタノールで消毒後、フォースミル (OSAKA CHEMICAL CO.LTD.) で細かくし、密閉できる袋に入れて、蒸留水を加えた。そ

の中にペーパーディスクを入れ溶液をしみこませた。そのペーパーディスクを、ガスピタンから抽出した菌を培養してあるプレートカウント寒天の上に乗せ、ヒーター式インキュベーターに入れ培養した。

実験③は、試料の植物（ハッカ、ササ、アロエ、一味唐辛子（原材料名:赤唐辛子、販売者:エスビー食品株式会社）、ヒガンバナの球根、白ネギ、青ネギ、ドクダミ、コーヒー、茶、セイタカアワダチソウ、ユズ（岡山県矢掛町産）、レモン、ミカン）を直接搾った液を用いた。ハッカ、ササ、アロエ、ヒガンバナ、白ネギ、青ネギ、ドクダミ、セイタカアワダチソウは、前述の実験と同様に水道水で洗い 60%エタノールで消毒後、フォースミルで細かくした。更にその粉碎物に蒸留水を加え、ガラス棒で押しつぶした後、ろ紙で搾り、2 mL ずつ寒天培地入りのシャーレに入れた。このとき同時にガスピタン 1 錠に蒸留水 60 mL を加えたもの（以後ガスピタン液とする）を 2 mL ずつ同じシャーレに入れた。ユズ、レモン、ミカンは、きれいに手を消毒してから直接搾り同様に、2 mL ずつ寒天培地入りのシャーレに入れ、ガスピタン液を 2 mL ずつ同じシャーレに入れた。コーヒーは 90 °C の蒸留水 500 mL に 5.0 g、茶は 80°C の蒸留水 500 mL に 5.0 g 溶かし、2 mL ずつ寒天培地入りのシャーレに入れ、ガスピタン液を 2 mL ずつ同じシャーレに入れた。一味唐辛子は、2 g を蒸留水 10 mL に溶かしたものをを用いた。

実験④は、これまで確認できていなかったビフィズス菌を観察するために、プレートカウント寒天培地の上にガスピタン液 2 mL を入れ、密封できる袋に入れて、さらに CO₂ ボンベ（ケニス株式会社）を用いて、袋の中を二酸化炭素で満たした。

実験⑤では、茶、アロエ、ユズ、レモン、コーヒー、サンショウに焦点を当てて実験を進めた。これらの実験では実験④に加えて、試料の濃度と pH を変えて調べた。実験方法は基本的に実験④と同じである。アロエは、水道水で洗い 60%エタノールで消毒後、フォースミルで細かくした。更にその粉碎した後のものに蒸留水を加え、ガラス棒で押しつぶした後、ろ紙で搾った。ユズ、レモン、ミカンは、きれいに手を消毒してから直接搾った。コーヒーは 90°C の蒸留水 500 mL に 5.0 g、茶は 80 °C の蒸留水 500 mL に 5.0 g 溶かした。サンショウは、乳鉢ですりつぶし、アロエと同様に蒸留水を加えて、ガラス棒で押しつぶした後、ろ紙で搾った。こうして作った液の pH を TEST PAPER 8SET pH O-14 (Toyo Roshi Kaisha, Ltd.) と pH メーター (DEGITAL pH/MV METER NPH-15DN, SHIMA DZU) を用いて測定した。その後、酢酸（1 級、キシダ化学株式会社）、水酸化ナトリウム（特級、和協化学工業株式会社）を用いて pH を変化させ、試料 2 mL とガスピタン液 2 mL を同時にプレートカウント寒天培地に流し込んだ。

この実験と同時に、茶、コーヒー、一味唐辛子のアルコール抽出物を用いた実験も行なった。抽出方法は、試料をフォースミルでできるだけ細かく粉碎したものを、40%~50%エタノールと一緒に密閉袋に入れて振り混ぜ、1 時間ほど寝かせておく。それをろ過した後、蒸留水をエタノール濃度が 10%になるまで加えて静置した。この抽出液をガスバーナーを用いて低温で加熱し、エタノールを除去した。残った液体をガスピタン液と混合し、プレートカウント寒天培地に流し込んだ。

比較実験として、酢酸を用いて同様に pH を変え実験を行なった。濃度は蒸留水を加え、希釈していった。また、この実験で新たに用いた LA 培地への移植は、白金耳で対象となる培地の表面を一部削り取り、それを LA 培地に入れて、シャーレと同様に培養した。

全ての実験結果の観察は、双目光学顕微鏡（オリンパス BH-2）、顕微鏡（オリンパス）とデジタル顕微鏡（050079380000）を用いて行った。

3. 実験結果

表 1 校舎内の細菌採取の結果

		教室 (日なた)	廊下 (日なた)	手洗い場	更衣室	トイレ
未加工の 寒天培地		変化なし	直径約 3cm の 黒いカビ	白い斑点が 数か所	白い斑点と 黄色いカビ	白い斑点が 数か所
加工した 寒天培地	茶 (伊右衛門)	変化なし	直径約 4.5cm の青白いカビ	変化なし	直径約 3cm の 青白いカビ	変化なし
	茶 (煎茶)	ろ紙の 周りに 白いカビ	直径約 2.5cm の緑のカビ	直径約 1cm の 黒いカビ	変化なし	直径約 2cm の 黒いカビ

表 1 より空気中には私たちが想像したよりはるかに多い細菌類やカビ類が存在し、実験に使える菌だけを採取して培養することは難しいと判断した。

そこで、実験に使用するのにも安全な乳酸菌が含まれている、ヨーグルト(ダノン BIO)、整腸剤(ガスピタン)を使用し、乳酸菌の培養を試みた。

表 2 乳酸菌の培養の結果

ヨーグルト (ダノン BIO)	生きた乳酸菌を寒天培地上に確認できた しかし菌の数が安定しなかった
整腸剤(ガスピタン)	生きた乳酸菌を寒天培地上に確認することができた 肉眼で乳酸菌のいる場所が確認しやすい

表 2 より整腸剤(ガスピタン)を用いたほうがよいと分かったので、ガスピタン 1 錠を乳鉢で砕いて、蒸留水 15 mL に溶いたものを寒天培地に 2.0 mL ずつそそいで乳酸菌を培養することにした。

次に、実際に植物を使って抗菌効果を調べた実験の結果は以下のようになった。ただし培地中の乳酸菌は整腸剤(ガスピタン)から得たものである。

表 3 (i) 乳鉢ですりつぶした植物を直接入れた場合

	肉眼で見た場合	乳酸菌の有無(光学顕微鏡)
トウガラシの実	変化なし	多数存在
ハッカ	植物のまわりが黒くなっていた	多数存在
ササ	植物のまわりが黒くなっていた	多数存在

表 4 (ii) 植物の抽出液に浸したペーパーディスクを用いた場合

	肉眼で見た場合	乳酸菌の有無(光学顕微鏡)
トウガラシの実	黄色くなっていた	死滅
アロエ	寒天が固くなっていた	多数存在
茶(伊右衛門)	特になし	多数存在
ハッカ	寒天が溶けているのもあった	多数存在
ササ	寒天が溶けているのもあった	多数存在
ヒガンバナの球根	特になし	死滅

表 5 (iii) 植物の抽出液を直接流し込んだ場合(顕微鏡使用)(ただし観察日は処理後 9 日目)

	アシドフィルス菌	フェカリス菌
アロエ	死滅	数は少なく、停止 連鎖状の菌が見られた
ユズ(皮)	数は少ない	数は多い
ユズ(汁)	ほとんど死滅	ほとんど死滅
ササ	死滅	動いていた
茶(伊右衛門)	死滅	連鎖状の菌が見られた
コーヒー	数は少なく、停止	数は多い 連鎖状の菌が見られた
ヒガンバナ	死滅	数は少なく、停止
ペパーミント	死滅	停止
ショウガ	停止	停止
ヨモギ	死滅	数は少なく、停止
ガスピタンのみ (対照実験)	数は少ない	数は多い

表 6 水抽出またはエタノール抽出を行った各試料に対するフェカリス菌・アシドフィルス菌の培養状況

試料名	アシドフィルス菌	フェカリス菌
アロエ A	×	○ (停止)
アロエ B	○ (動きが鈍い)	○
ガスピタン (CO ₂ を注入)	×	○
お茶 (エタノール)	○ (動きが鈍い)	○ (動きが鈍い)
お茶	×	○ (停止)
コーヒー (エタノール)	△	○
コーヒー	○	○
コショウ	○	○
トウガラシ (エタノール)	○	○

※ ○菌が存在したもの △わずかに菌が存在したもの ×菌が存在しなかったもの

() 菌の運動の有無, 様子

- ※ 試料名の後に特に注意のないものは全て水で抽出している。
- ※ ○印の後に特に注意のないものは, 菌が動いていると判断したものである。
- ※ アロエ A・B は同条件で同じように培養したものである。

アシドフィルス菌は対照実験の時点からフェカリス菌に対して存在比がとても小さかったため, 存在するかしないかの判断ははっきりできないものも多かった。しかし, コーヒー(水抽出)には通常よりも高い割合でアシドフィルス菌が存在した。

また, 菌の動きについても, 動いているように見えるものと停止していると思われるものが混在していたり, 菌が動いているのか流れているだけなのかなどはっきりとは判断しにくいものも多かった。しかし, 特徴としては, 茶(水抽出)・コーヒー(水抽出)には, いくつかフェカリス菌が寄り集まって固まっているものや, 2~5 個の範囲でつながっているものが所々に見られた。尚, 茶(エタノール抽出)・コーヒー(エタノール抽出)にはこのような変化はあまり見られなかった。

さらに, 菌の動きが停止していると判断した茶(水抽出), アロエについては LA 培地に移植してみたところ, 乳酸菌の存在反応が出た。

また, CO₂ 封入のシャーレからはビフィズス菌が観察できた。

表 7 pH 調節をした各試料に対するフェカリス菌・アシドフィルス菌の培養状況

試料	処理後 4 日目		左記観察の 2 日後	
	フェカリス菌	アシドフィルス菌	フェカリス菌	アシドフィルス菌
酢酸 pH1.8・2.0・2.2・2.4・2.6・2.8・3.0	○(停止) 少数	×	×	×
レモン原液 pH2.1	試料 AB ともに ○(停止) 少数	試料 AB ともに ×	試料 A× 試料 B○(動) 少数	試料 A× 試料 B×
レモン pH2.5	試料 AB ともに ○(停止) 少数	試料 AB ともに ×	試料 A× 試料 B○(動)	試料 A× 試料 B○(動)
レモン pH3.0	試料 AB ともに ○(停止)	試料 AB ともに ×	A× B○(動)	A× B○(動)
レモン pH4.1	試料 AB ともに ○(停止)	試料 AB ともに ×	試料 AB ともに ○(動) 少数	試料 AB ともに ×
アロエ pH3.0	○(停止) 少数	×	×	×
アロエ pH3.9・4.2・5.2	○(停止)	○(動きが鈍い)	○(動) 多数	○(動) 多数
アロエ pH6.0・7.1	○(動)	○(動)	○(動)	○(動)

※ ○菌が存在したもの △わずかに菌が存在したもの ×菌が存在しなかったもの

() 菌の運動の有無, 様子

- ※ 酢酸については 7 種の試料を用いたが, 結果が全て同じであったためまとめて表記した。
- ※ レモンについては AB2 つの試料(同条件)を用いた。

表 7 の左半分の観察結果を得て二日後に右半分の観察結果を得た。ただし、表 7 の観察結果は顕微鏡を用いて目で見て判断を下したものである。(LA 培地による判断は含んでいない)

酢酸の場合はどの pH でも、一度目の観察時点で菌は少なく二度目時点で菌は存在しなくなった。同様に、アロエについては pH3.0 のみ菌が存在しなくなった。しかし、アロエでそれ以上の pH のものは全てフェカリス菌・アシドフィルス菌両方が存在していた。

また、レモンについては一つの条件につき、全てシャーレを二個ずつ作成して実験を行った(表では A・B と名付けて区別した)が、同じ条件であるはずだが二回目の観察結果に大きく差が生じた。

さらに、酢酸、レモン A pH2.0・pH2.5・pH3.0、アロエ pH3.0 については LA 培地への移植実験も行った。結果、酢酸全てとレモン A pH2.0 には乳酸菌反応は見られず、残りのものには全て乳酸菌反応が見られた。

また、酢酸についてはその後一週間が経過しても LA 培地に変化はなかったが、レモン A pH2.0 については、一週間後の観察では変色が起こり乳酸菌反応が現れていた。

表 8 pH 調節をした各試料に対するフェカリス菌・アシドフィルス菌の培養状況

試料	pH	フェカリス菌	アシドフィルス菌
ユズ原液	3.0	○	○
ユズ	3.5	○	○
サンショウ	2.7	○ (ごく少数)	×
サンショウ	3.5	○ (少数)	×
サンショウ	5.9	○	○ (少数)
サンショウ	7.4	○ (少数)	○ (少数)
レモン原液	2.1	×	×

※○菌が存在したもの ×菌が存在しなかったもの

冬場に行った野生のユズを用いて行った実験の際には抗菌効果が見られたユズは、今回の実験では全く効果が見られなかった。また、今回初めて用いたサンショウは、シャーレを肉眼で観察した段階で他の試料よりもきれいなものが多く、顕微鏡を用いた観察でも菌は見られたが数は少なかった。レモンの原液ではしっかりと抗菌効果が現れていた。

4. 考察

(i)では、植物をすりつぶして直接入れただけなので、抗菌作用を持つ物質が乳酸菌に直接接触する量が少なく、効果が現れなかったと考えられる。

(ii)では、植物の抽出液の濃度が低く、その結果抗菌作用が現れなかったと考えられる。

(iii)では、アシドフィルス菌に対してはほとんどの植物が抗菌作用を示したが、アシドフィルス菌とフェカリス菌の両方に抗菌作用を示したのは、ユズ(汁)だけであった。よって、ユズ(汁)には抗菌作用を持つ物質が含まれていると思われる。

コーヒー(水)には、アシドフィルス菌の存在比が大きかったことから、成分中の何かがアシドフィルス菌に特別な影響を与えたと考えられる。(今回の実験においてシャーレの作成は1個であつ

たため再現性の確認はできていない。) また、茶(水)・コーヒー(水)には見られ、茶(エタノール)・コーヒー(エタノール)に見られなかった、連鎖上の菌が出現したことから、茶・コーヒーには水溶性の成分で何かフェカリス菌に作用するものがあつたと考えられる。

また、LA 培地の実験からは、停止している菌は一時的に活動が弱くなつただけで生きていたことがわかつた。

酢酸については実験に用いた全ての pH で完璧な殺菌効果があることがわかつた。また、同じ pH のレモンどうしのデータが異なつてしまつた事に関しては、私たちがそろえたと思つていた条件以外に異なる条件上で差異があり、このような結果を招いたのではないかと推測した。しかし、このことから、レモンには酢酸とは違つた抗菌作用に関する条件があるのだらうと推測できた。また、LA 培地の一週間後の変化からも酢酸とレモンの抗菌作用に違いがあることが推測できた。

アロエについては pH 3.0 での顕微鏡を見る分には抗菌作用があつたように思われたが、LA 培地による実験から、乳酸菌はまだ存在してつたとわかつた。

尚、今回の実験において頻繁に起つた現象は、顕微鏡で乳酸菌が確認できないにも関わらず LA 培地に移植すると乳酸菌反応が見られるというものだつた。これについては、肉眼での観察の精度は低いということ、もしくは観察しにくい状態にまで何か影響を受けて変化を起こしてつた菌が、LA 培地という繁殖しやすい条件の下で再び活発になつたということ、のどちらかであるだらうと推測した。が、これ以上の研究は不可能であつた。

ユズに関しては季節が外れてつたためにカスカスであつたこと、また、今回は野生のユズではなく市販のものを使用したこと、これらの理由から前実験と異なつた結果となつたと推測した。

また、サンショウには pH にもよらない特別な効果が見られたように思われたが、試料がもう手に入らなかつたため、これ以上の実験はできなかつた。

酢酸 pH2.1~3.0 については、シャーレ作成から二日後に LA 培地に移植したものは全て乳酸菌反応が見られ、四日後・六日後に移植したものは全て乳酸菌反応が見られなかつたことから、酢酸の殺菌作用が完全に働くまでには少しの時間を要することがわかつた。対照的に、pH2.0(原液)のレモンについては、二日後に移植したものは乳酸菌反応をほとんど示さなかつた。しかし、この LA 培地を放置したところ、前実験と同様にやはり徐々に黄色く変化をしてつた。(乳酸菌反応を示すよつになつた) これより、抗菌効果が現れるまでの時間差という点でも、レモンと酢酸で違いがあるといえる。

5. 結論

私たちの実験は、実験で使う菌を考えるとこつから始まつた。空気中の菌を利用する方法、乳酸菌を含む食品であるヨーグルトの「ダノン BIO」を利用する方法、乳酸菌を含む整腸剤である「ガスピタン」を利用する方法を試し、最終的に、作成した寒天培地にガスピタン 1 錠を水 60 mL で溶いて作成した液 2 mL と資料の抽出液 2 mL を同時に注ぎ、約 3 日間培養する方法に行き着いた。

試料の抽出液の作成方法は、果汁を搾つて得た。果汁を搾れないものについてはフォースミルを用いて粉砕し、粉砕物の汁を搾つた。茶、コーヒー、一味唐辛子についてはアルコール抽出もした。

この方法で、どの植物(実験に用いた植物:アロエ、ユズ(皮)、ユズ(汁)、ササの葉、茶(伊右衛門)、コーヒー、ヒガンバナ、ペパーミント、ショウガ、ヨモギ)に抗菌効果があるかを調べたところ、ガスピタンに含まれるアシドフィルス菌とフェカリス菌のうち、ほとんどすべての試料に

において、アシドフィルス菌に対する抗菌効果がみられた。しかしアシドフィルス菌とフェカリス菌の両方に対する抗菌効果が見られたのはユズ（汁）のみであった。このことから、ユズ（汁）にはほかの試料にはない抗菌作用を持つ成分が含まれると考えられる。またアロエにおいては、ほかの試料に比べて菌の動きが活発であった。

このユズ（汁）にみられる抗菌効果がユズ（汁）に含まれる酸によるものなのか、ほかの成分によるものなのかをはっきりさせるために、酢酸・レモン・ユズを用いた実験を試みた。しかし、ユズが季節外れであったために、十分な果汁を得ることができず実験には使えなかった。ユズは諦め、レモンと酢酸を用いて実験を進めたところ、酢酸はどの pH においても完璧な殺菌効果がみられ、その効果が持続した。これに対し、レモンは pH の低いものについては抗菌効果がみられたが、その効果が持続しなかった。

レモンの抗菌効果がどのくらいの期間持続するのかを調べるために LA 培地を使った実験を行った。寒天培地に試料（レモンの果汁・酢酸）とガスピタンを同時に注いで菌を培養し、それを培養してから 2 日後、4 日後、6 日後に LA 培地に移して更に培養した。2 日後に移したものについては、LA 培地の色に変化した。4 日後、6 日後に移したものについても移してから 2 日後には色の変化がなかったものの、6 日後には色の変化が見られた。この結果から考えられることは、寒天培地にレモンの果汁とガスピタンを同時に注いだ段階では液体の pH が低く、乳酸菌が生育しにくい環境であった。よって 4 日間（6 日間）寒天培地上で培養している間に乳酸菌が弱り、LA 培地に移した直後は乳酸菌反応が見られなかった。2 日間培養したものは乳酸菌があまり弱っていなかったためにすぐに乳酸菌反応が見られたと考えられる。4 日間（6 日間）寒天培地上で培養してから LA 培地に移したものについて考えられることは、寒天培地上で乳酸菌は弱ったが、LA 培地はほぼ中性であり、乳酸菌の生育しやすい環境であるため、LA 培地に移して 6 日ほどすると、弱っていた乳酸菌の働きが再び活発になったということである。レモンにも抗菌効果があることは確かだが、酢酸のように強力なものではなく、酸以外の条件も関係していることが考えられる。

今回の実験での反省点・課題は、乳酸菌が複数種類含まれる製品を利用したために、顕微鏡観察で菌の種類を確かめる必要があった。抗菌効果を調べるためには 1 種類の乳酸菌を使用するだけで十分だと思った。

また、ある一つの試料でもさまざまな pH で実験を行ったが、どの植物に抗菌効果があるかを調べるには、実験に使う菌が生育するのに最適な pH を調べ、その pH に統一し様々な試料で実験を行うべきだった。

基本的に授業のある日のみ実験を行っていたので多少のばらつきが出てしまった。そのために結果にもばらつきがでている可能性がある。実験期間を統一する必要があった。

この実験を通して思ったことは、実験で使う菌を模索する段階で、ヨーグルトに含まれる乳酸菌の使用や空気中の菌を使う方法を試してみて、思ったよりも菌の量をコントロールするのが難しかった。ヨーグルトなどの生きた乳酸菌が含まれる食品が安定して生産されていることが、改めてすごいと思った。また、抗菌作用はなかなか見られないものの、顕微鏡で観察すると乳酸菌が連鎖している様子が観察されるなど、大変興味深かった。

6. 参考文献

群馬県高崎高等学校 SSH 課題研究生徒レポート

<http://www.takasaki.ed.jp/ssh/research/report/h18report-research-4.pdf>

7. 謝辞

喜多村滋先生，いつも私たちの実験を指導してくださり本当にありがとうございました。

長野英子先生，高木三和子先生，実験器具・試薬の調達，そしてあたたかいサポートをありがとうございました。

また中間発表時に，たくさんのアドバイス・質問を投げかけてくださった方々のおかげで，私たちだけでは気付かなかった点にも目を向けることができました。

最後に SSH 関係の方々，このような機会を与えてくださり本当にありがとうございました。

葉緑体の研究

河岸良承 中村大樹 由比直樹 吉田将也

1. 緒言

私たちは、光合成植物の細胞小器官であり通常動物細胞内には存在しない葉緑体がなぜ動物体内で発達しなかったのかと疑問に思い、もし葉緑体を動物の体内に入れたとしたらどういう反応が起こるのかということに興味を抱き、葉緑体に関する研究をすることにした。

動物の中でも、ウミウシという動物は、餌である海藻の葉緑体を自身の細胞内に取り込み光合成をおこなうと、「盗葉緑体により光合成する囊舌目ウミウシ」(山本義治)で発表されている。そこで、もし適切に動物の体内に葉緑体を入れることができればその動物も光合成をするのではないかと考え、次の実験をした。

市販のハウレンソウを乳鉢ですりつぶし、それに粉碎液(作り方は後述のとおり)を加え、遠心分離機で分離して取り出した葉緑体をメダカの体内に小型注射器を用いて注入する。そのメダカをフラスコに入れ、経過を観察し葉緑体が動物体内ではたらくかを、光合成の生成物である酸素の増減によって確認する。私たちは葉緑体を注入したメダカが入っているフラスコ内の酸素量が増加すると仮説をたてた。この実験が仮説どおりになれば、メダカは日光に当たるだけで体内でエネルギーを生み出し、自給できる。もしくは餌を少量でもおぎなうことができる。

また、実験の都合上、上記の実験を続けることが困難になったため、新たな実験として、都会にあるにもかかわらず、大手前高校には緑が多いことから、大手前高校の中庭の植物の光合成能力はどれくらいあるのだろうかと思い、調べることにした。

キンモクセイ、イチョウ、サクラ(陽光、ソメイヨシノ)、クロガネモチ、アラカシの葉を採集し、炭酸水素ナトリウム水溶液を満したペットボトルに 10 枚ずつ入れ、光を照射し酸素の生成量を比較した。イチョウは緑色が薄いため光合成量が一番少ないと予測した。

2. 実験手順

実験 1.

1. 0.175 mol のソルビトール(OSAKA キシダ化学株式会社, 特級)と、2.5 mmol の EDTA-Na(OSAKA キシダ化学株式会社, 1 級)を、純水 500 mL に溶かし、塩酸(OSAKA キシダ化学株式会社, 1 級)を用いて、pH メーター(島津製作所, NPH-150 N)で測定しながら pH を 8.0 に調整する。これを Buffer A とした。また、0.175 mol のソルビトール (OSAKA キシダ化学株式会社, 特級) と、1.25 mmol の EDTA-Na(OSAKA キシダ化学株式会社, 1 級)を、純水 500 mL に溶かし、塩酸(OSAKA キシダ化学株式会社, 1 級)を用いて pH メーター(島津製作所, NPH-150 N)で測定しながら pH を 8.0 に調整する。これを Buffer B とした。ハウレンソウ(市販)の葉、約 40 g を手で引きちぎり、乳鉢にこのハウレンソウと Buffer A を加え、乳鉢を用いて破碎する。(図 1)この液をホモジェナイザーでさらに細かく破碎し(図 2), その液をガーゼ(市販)を用いて、ろ過する。このろ液に Buffer B を加えたものを遠心分離器(佐久間製作所 MODEL No.M160)2500rpm, 15 min で遠心分離する。この沈殿を取り出す。

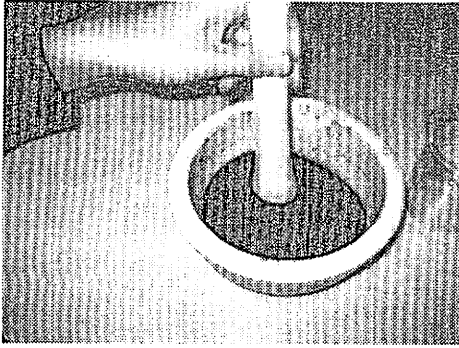


図 1 ほうれん草の葉をすりつぶす様子

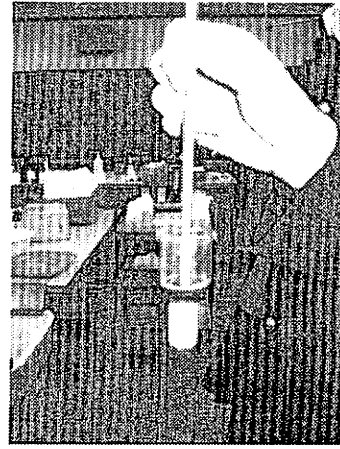


図 2 ホモジェナイザーで粉碎する様子

2. メダカ(市販)にこの沈殿を小型注射器を用いて、体内に注射する。このとき、メダカはポリ塩化ビニルの袋に入れて動かないようにし、沈殿を水道水に混合する。(図 3)このメダカを 1 日放置して、生存を確認する。

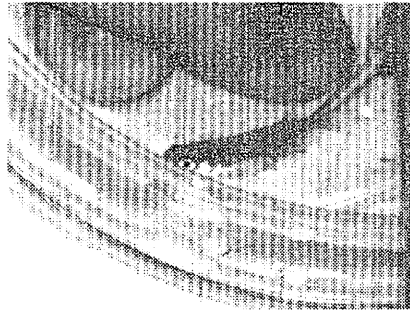


図 3 葉緑体を注入する様子

3. MgCl_2 (半井化学薬品株式会社,特級)0.017 g KCl (半井化学薬品株式会社,特級)0.020 g NaCl (半井化学薬品株式会社,特級)0.020 g を蒸留水 100 mL に溶かし、メダカのリンガー液を作る。これに沈殿物を混合して、2. と同様に注射する。このメダカを 1 日放置して生存を確認する。

4. 3.の手順でさらに、20 匹のメダカに注射しておき、 NaHCO_3 (OSAKA キンダ化学株式会社,1 級)の 1%の水溶液(溶液 a)をいれた三角フラスコを 6 つ用意し、10 匹ずつ 2 つの三角フラスコに入れる。また、未処理のメダカを 10 匹ずつ、2 つの三角フラスコに入れる。

5. メダカ(沈殿物入り)、メダカ(未処理)を入れた三角フラスコと、1%の NaHCO_3 水溶液のみの三角フラスコをそれぞれアルミニウム箔で包むものと包まないものに分ける。これらを図 4 のように水槽にいれ、ヒーターで 20 度前後に保ちながら、蛍光灯(40 W)2 本を用いて 4000 lx の光を照射した。

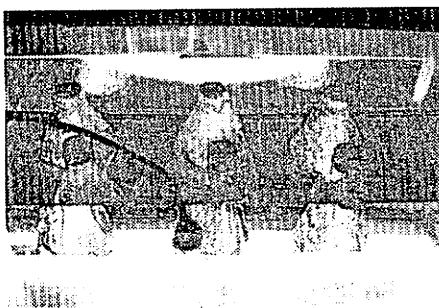


図 4 光を照射する様子

6. 溶存酸素計(株式会社堀場製作所 OM-51)を用いてそれぞれの溶存酸素濃度を測定した。

実験 2

1. 取り出した沈殿物を約 1%の NaHCO_3 水溶液(溶液 a)を入れた三角フラスコに混合したものと溶液 a のみを入れた三角フラスコを用意し、図 4 と同じように蛍光灯を用いて光を照射し、1 日放置する。

2. 溶存酸素計(株式会社堀場製作所 OM-51)を用いてそれぞれの溶存酸素濃度を測定した。

実験 3

1. 大手前高校の中庭に生えているイチョウとキンモクセイをそれぞれ採集し、それぞれを同じ量(10 枚)ずつ約 1%の NaHCO_3 水溶液(溶液 a)で満たしたペットボトルに入れ、それぞれについてペットボトルを 2 本ずつ用意する。

2. それぞれのペットボトルの溶存酸素濃度を溶存酸素計を用いて測定した。

3. それぞれ 1 本ずつアルミニウム箔を光が当たらないように覆い、アルミニウム箔で覆わないペットボトルとともに蛍光灯(40 W) 2 本を用いて約 2000 lx の光を 7 時間照射する。

4. ペットボトル内の生成された気体を水で満たした水槽内で容量 50 mL のガラス管にいれ(図 5), ふたをして取り出し溶存酸素計を用いて気体の酸素濃度を測定する。また, 50 mL メスシリンダーで気体の体積を測定する。このときの温度は 22 °C であった。

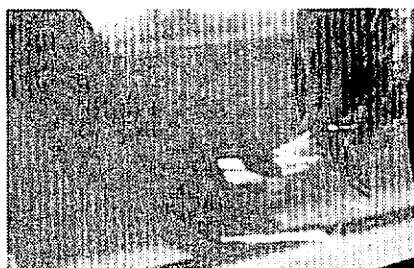


図 5 気体を取り出す様子

5. ペットボトル内から細いチューブを用いて、泡が立たないようにビーカーにペットボトル内の気体を取り出し(図 6)、溶存酸素計を用いて溶存酸素量を測定する。(図 7)



図 6 溶液を取り出す様子

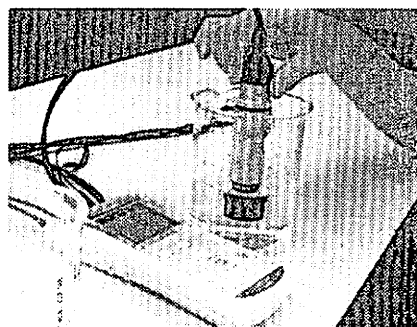


図 7 溶存酸素量を測る様子

6. それぞれのペットボトルについて 10 枚ごとの 1 時間あたりの酸素生成量を計算によって求めた。

7. 同じ作業を、陽光とソメイヨシノ、アラカシとクロガネモチについても行った。

3. 実験結果

実験 1 の結果を表 1 に示す。

表 1 実験 1 の結果

処理方法	溶存酸素量(mg/L)
① 溶液 a に光をあてたもの	6.56
② 溶液 a にメダカを入れ、光をあてたもの	1.02
③ 溶液 a に葉緑体を注入したメダカを入れ、光をあてたもの	0.97
④ 溶液 a に光をあてなかったもの	5.84
⑤ 溶液 a にメダカを入れ、光をあてなかったもの	0.87
⑥ 溶液 a に葉緑体を注入したメダカを入れ、光をあてなかったもの	0.84

(注) 溶液 a : 1%NaHCO₃ 水溶液

溶液 a にメダカを入れ、光をあてたものも、葉緑体を注入したメダカを入れ、光をあてたものも、それぞれに光をあてなかったものも(②③⑤⑥)、溶存酸素量に大きな変化は見られなかった。また、溶液 a に光をあてたものも、あてなかったものも(①④) 大きな変化は見られなかった。

実験 2 の結果を表 2 に示す。

表 2 実験 2 の結果

処理方法	溶存酸素量 (mg/L)
⑦溶液 a に光をあてたもの	7.51
⑧溶液 a に葉緑体を入れ、光をあてたもの	1.02

溶液 a に何も入れずに光をあてたもの(⑦)に比べて、溶液 a に葉緑体を入れ光をあてたもの(⑧)は溶存酸素量が大きく減少していた。

実験 3 の結果を表 3-1 に示す。

表 3-1

処理	実験前の溶存酸素量 (mg/L)	実験後の溶存酸素量 (mg/L)	実験後の気体中の酸素濃度 (%)	実験後の気体量 (mL)
イチョウに光をあてたもの	5.02	17.82	68.3	57.2
イチョウに光をあてなかったもの	6.06	4.53	測定不可	1.9
キンモクセイに光をあてたもの	4.54	14.26	35.0	22.9
キンモクセイに光をあてなかったもの	5.97	4.70	測定不可	0.5
陽光に光をあてたもの	6.25	14.3	60.5	32.6
陽光に光をあてなかったもの	6.51	5.00	測定不可	0.5
ソメイヨシノに光をあてたもの	5.50	14.4	57.4	33.1
ソメイヨシノに光をあてなかったもの	4.54	3.87	測定不可	0.3
アラカシに光をあてたもの	5.29	10.37	24.6	25.7
アラカシに光をあてなかったもの	4.97	3.83	測定不可	0.45
クロガネモチに光をあてたもの	5.11	10.1	32.1	17.29
クロガネモチに光をあてなかったもの	5.17	4.93	測定不可	4.53

溶存酸素量の増加量も発生した気体の酸素量もイチョウがもっとも多いことがわかる。また、そ

それぞれの種類の光をあてなかったものは、発生した気体量が少なかったため、発生した気体中の酸素濃度を測定することができなかった。

実験 3 より得られた各種類の 1 時間あたりの酸素生成量を表 3-2 に示す。

表 3-2 それぞれ 10 枚ずつの 1 時間あたりの酸素生成量

処理	生成した酸素量(mg/h)
イチョウに光をあてたもの	11.2
イチョウに光をあてなかったもの	-0.439
キンモクセイに光をあてたもの	4.40
キンモクセイに光をあてなかったもの	-0.376
陽光に光をあてたもの	6.10
陽光に光をあてなかったもの	-0.447
ソメイヨシノに光をあてたもの	6.24
ソメイヨシノに光をあてなかったもの	-0.198
アラカシに光をあてたもの	2.68
アラカシに光をあてなかったもの	-0.337
クロガネモチに光をあてたもの	2.51
クロガネモチに光をあてなかったもの	-0.0710

表 2 からイチョウが最も酸素を生成したことがわかる。

キンモクセイとアラカシに光をあてなかったものの酸素減少量がほとんど同じであることから、キンモクセイとアラカシの呼吸量がほぼ同じであったことがわかる。

また、陽光とソメイヨシノに光をあてたものの酸素生成量がほぼ同じなのに対し、光をあてなかったものの酸素減少量は倍以上の差があることから、呼吸量は陽光のほうが多いことがわかる。

クロガネモチは、他の種類と比べると、酸素生成量も呼吸量も最も少ないことがわかる。

表 3-3 に葉の枚数を概算した結果を示す。

表 3-3 それぞれの樹木一本あたりの葉の枚数

	一本あたりの葉の枚数(枚)
イチョウ	193200
キンモクセイ	9200
陽光	1318
ソメイヨシノ	10640
アラカシ	6750
クロガネモチ	10448

表 3-4 にそれぞれの樹木の一本の 1 時間あたりの酸素生成量を示す。

表 3-4 それぞれの樹木の一本の 1 時間あたりの酸素生成量

	生成した酸素量(g/h)
イチョウに光をあてたもの	2160
イチョウに光をあてなかったもの	-84.8
キンモクセイに光をあてたもの	113
キンモクセイに光をあてなかったもの	-9.69
陽光に光をあてたもの	8.04
陽光に光をあてなかったもの	-0.589
ソメイヨシノに光をあてたもの	66.4
ソメイヨシノに光をあてなかったもの	-3.69
アラカシに光をあてたもの	18.1
アラカシに光をあてなかったもの	-0.227
クロガネモチに光をあてたもの	26.2
クロガネモチに光をあてなかったもの	-0.742

イチョウの酸素生成量が最も多いことがわかる。

4. 考察

実験 1

表 1 の②③⑤⑥から<溶液 a にメダカを入れ, 光をあてたもの>, <溶液 a に葉緑体を注入したメダカを入れ, 光をあてたもの>, <溶液 a にメダカを入れ, 光をあてなかったもの>, <溶液 a に葉緑体を注入したメダカを入れ, 光をあてなかったもの>で溶存酸素量に違いがほとんど見られなかったことから, 光のあるなしにかかわらず葉緑体がうまく働かなかったと考えられる。

葉緑体が働かなかった理由として葉緑体を注入した部分が悪かったことや, 使用した葉緑体が光合成を行う能力を持っていなかったと考えられる。

実験 2

実験 1 で用いた葉緑体は光合成をしていないことが表 2 の⑦⑧の比較から分かる。

このことから葉緑体自身が光合成を行う能力を失っていたと考えられる。その理由として考えられることはハウレンソウから取り出した後の保存方法が悪かった, また葉緑体が腐っており, そのため酸素が消費されたのではないかと考えられる。

このことは実証ができなかったため, 確証はない。しかし, 葉緑体が光合成を行う能力を持ったまま取り出すことができれば, メダカの体の中で違う結果が出ていたと予想される。

実験 3

表 3-2,表 3-4 のそれぞれの生成した酸素量から今回調べた 6 種類の植物では, イチョウの光合成による酸素生成量が葉 1 枚当たりでも樹木 1 本当たりでも最も多く, 葉 1 枚当たりではクロガネモチが, 樹木 1 本当たりでは陽光が最も少なかった。また, クロガネモチは酸素減少量も他のものより最も少ないことから, 呼吸量が最も少ないことが確認された。クロガネモチは光合成量と呼吸量の面から, その両方で最も活動的でないことが分かった。イチョウは大手前高校内に 8 本あり, 大手前高校内全体での光合成による酸素生成量の多くを担っていることが分かった。

5. 結論

実験 1 の結果、葉緑体がメダカの体の中で働くことはなかった。その理由として葉緑体を注入した部分が悪かったことや、葉緑体自身がはたらきを持っていなかったことの 2 点を挙げたが、前者は私たちの技術では実証ができなかった。後者については実験 2 から葉緑体自体が保存方法の点から腐ってしまったと考えた。

実験 3 ではイチョウ、キンモクセイ、陽光、ソメイヨシノ、アラカシ、クロガネモチの 6 種類の光合成による酸素生成量を調べた結果、葉 1 枚当たりと樹木 1 本当たりで最も生成量が多かったのはイチョウであった。また、葉 1 枚当たりではクロガネモチが、樹木 1 本当たりでは陽光が酸素の生成量が最も少なかった。

6. 謝辞

私たちの研究に助言、手助けをしてくださった大手前高校生物科：安井博司先生 実習教諭：高木三和子先生 元大手前高校生物科：野口俊一先生 他発表会の度に助言してくださった大学の先生方に感謝します。

7. 参考文献

高校教科書生物 I (第一学習社)

山本義治 「盗葉緑体により光合成する囊舌目ウミウシ」

松田仁志 「光合成による気体発生と酸素の確認」

大阪府高等学校生物教育研究会誌 36 号

金属イオンが生体に及ぼす影響

齊藤惇基 武智大喜 平田博一 廣瀬江祐 宮内大輔

1. 緒言

昔から、「水を張った甕に 10 円玉を入れておくとボウフラ(蚊の幼虫)がわからない」と言われている。我々はこのことに興味を持ち、銅や銅イオン(ここでは二価)が蚊以外の害虫駆除にも応用できるかもしれないと考え、実験を始めた。ここで、実際にボウフラを使うために飼育・維持し続けるのは困難なため、増殖・維持しやすいミドリムシやゾウリムシを使って実験を始めることとした。なお、先ほどの話に出てきた 10 円玉の主成分の銅と銅イオン(II)が生体に大きな影響を及ぼすであろうという仮説に基づいて、銅と銅イオンの影響を調べることを中心に実験を組み立てた。

我々は初め、着色していて観察しやすいという理由から、ミドリムシを使用した実験を行った。予想では、銅などの重金属が大きな影響を及ぼすと考えた。次にゾウリムシを使って実験をした。ここではまず、後に述べる繊毛の動きとニッケルイオン(IV)とマグネシウムイオン(II)の関係性を確かめるために、 NiCl_4 と MgCl_2 を使いゾウリムシの動きを調べる実験から開始した。そこから発展して、我々の目的である銅イオン(II)について、 CuCl_2 を用いて実験した。なお、銅イオン(II)とゾウリムシを使った実験は我々の確認したところ、どのホームページにも記載されていなかったため、何が起こるのかはほとんど予測できなかった。そのため、実験の結果によって、次の実験を計画することになった。その結果、銅イオン(II)がゾウリムシに大きな影響を及ぼすことが分かった。ここでは、そのことを中心に結果を報告する。

ここで、ゾウリムシの器官について、我々の実験に大きくかかわる繊毛と収縮胞について説明する。まず繊毛についてだが、これはゾウリムシの細胞小器官の一つで、表面に生えた無数の微小な毛状のものである。ゾウリムシは繊毛を規則正しく波打たせることで螺旋を描きながら前進運動を行う。なお、ゾウリムシの繊毛はニッケルイオン(IV)によって動きの秩序が乱され前進運動ができなくなり、その後マグネシウムイオン(II)によって秩序を失った繊毛は再び秩序を取り戻し、通常の螺旋運動を開始することは文献調査(文献①より)によって確認済みである。

次に収縮胞についてだが、収縮胞はゾウリムシ体内に蓄積した水分を外部に排出するための細胞小器官である。ゾウリムシはただ一層の細胞膜に囲まれているだけなので、体液よりも低張な液中ではゾウリムシの中に水分が時間の経過に伴って入り込み、水分を排出しなければゾウリムシは破裂してしまう。これを防ぐために存在するのが収縮胞である。なお、周りの液体の浸透圧が大きくなると、ゾウリムシ体内に入り込んでくる水分は少なくなるので収縮胞の動きの周期は長くなる(つまり、あまり収縮胞は動かない)。

最後に、収縮胞に関係する実験では、特定の金属イオンの影響を調べるため、外液の浸透圧を大きくするときにはスクロースを加えることによって浸透圧を大きくして実験した。

2. 実験手順

① ミドリムシでの実験

ボウフラを実験のために飼育し続けるのは困難なため、代わりに原生生物であり色が付いて観察しやすいミドリムシを用いて実験を行った。シャーレに培養液ごとミドリムシを入れる。その中に銅片、亜鉛片、アルミニウム箔、鉛片、マグネシウム片を入れた。対照実験として、金属片を入れていないミドリムシ入りのシャーレを用意した。光の影響をなくするために暗室中に 10 日間放置

した。10 日後に図 1 のように、金属片に近いところ、遠いところからそれぞれピペットで取り出し、光学顕微鏡($\times 150$)で観察した。

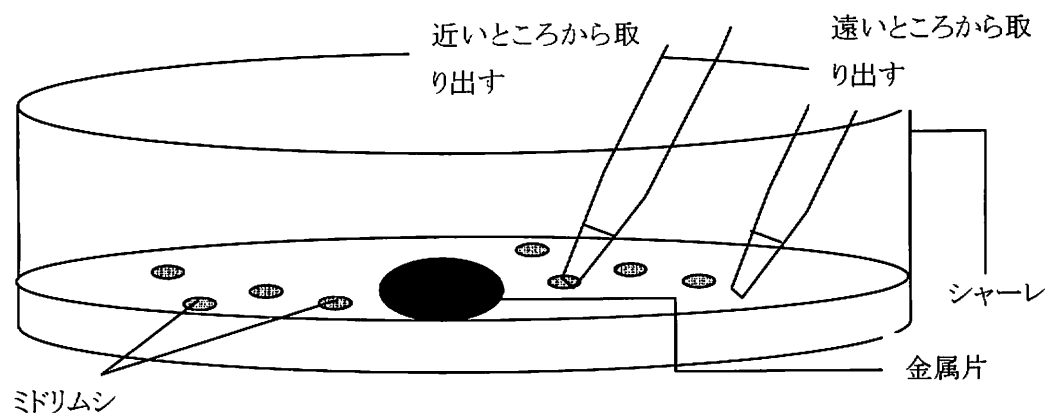


図 1 (実験中のシャーレ)

この実験で明らかに影響が出た、銅片と亜鉛片については、再度同様に実験を行った。

② 金属イオンがゾウリムシに与える影響

ミドリムシは小さすぎて観察に適していないと考え、ゾウリムシを使用することにした。さまざまな金属イオンをゾウリムシ培養液に加え、どのような変化があるのかを観察する。

i) NiCl_4 と MgCl_2 での実験

ゾウリムシ培養液 $75 \mu\text{L}$ をマイクロピペット(LMS 株式会社 ep-200R)を用いて血液反応板に入れ、そこに 0.3 mmol/L の NiCl_4 水溶液(キシダ化学株式会社 第一級)を $75 \mu\text{L}$ ずつ加え、双眼実体顕微鏡($\times 20$)(Nikon ネイチャースコープファールミニ)で動きの変化を見る。もし、ゾウリムシの動きが止まったら、 0.1 mol/L の MgCl_2 水溶液(塩化マグネシウム六水和物, キシダ化学株式会社) $75 \mu\text{L}$ を入れて動きの変化を見る。

ここで MgCl_2 水溶液を使用したのは、慶応義塾大学生物学教室のホームページを参考にしたためである。

ii) CuCl_2 と MgCl_2 での実験

ゾウリムシ培養液 $75 \mu\text{L}$ をマイクロピペットを用いて血液反応板に入れ、そこに 0.3 mmol/L の CuCl_2 水溶液(塩化第二銅(第一級) キシダ化学株式会社)を $75 \mu\text{L}$ 加え、双眼実体顕微鏡($\times 20$)で動きの変化を見る。もし、ゾウリムシの動きが止まったら、 0.1 mol/L の MgCl_2 水溶液 $75 \mu\text{L}$ を入れて動きの変化を見る。

iii) 濃度との関係

ゾウリムシ培養液 $75 \mu\text{L}$ をマイクロピペットを用いて血液反応板に入れたものを 6 つ用意し、そこに 0.050 mmol/L , 0.10 mmol/L , 0.30 mmol/L , 0.50 mmol/L , 1.0 mmol/L , 5.0 mmol/L の CuCl_2 水溶液 $75 \mu\text{L}$ をそれぞれの血液反応板に加える。そのときのゾウリムシの動きの変化を双眼実体顕微鏡で観察する。

iv) 高濃度での実験

ゾウリムシ培養液 $10 \mu\text{L}$ をマイクロピペットを用いて入れたスライドガラスを 3 つ用意し、そこに 0.1 mol/L の CuCl_2 , BaCl_2 (塩化バリウム二水和物(米山一級) 米山薬品工業株式会社), NiCl_4 水溶液 $10 \mu\text{L}$ をそれぞれのスライドガラスに入れて光学顕微鏡($\times 600$)で観察する。

③ 繊毛について

ゾウリムシ培養液 $2 \mu\text{L}$ をスライドガラスに入れ、そこに 0.5 mmol/L の CuCl_2 を $2 \mu\text{L}$ 加える。そ

のときのゾウリムシの動きの変化，特に繊毛や収縮胞の動きを光学顕微鏡($\times 600$)で観察する。

④ 浸透圧を変えて実験

これまでの実験よりゾウリムシが破裂したのは，収縮胞の機能が失われたからであると考えたので，スクロースを CuCl_2 水溶液に加えて外液の浸透圧を調節し実験した。光学顕微鏡($\times 600$)(デジタルマイクロスコープ DMBA310/210 株式会社島津理化)で観察する。 0.5 mmol/L の CuCl_2 水溶液 100 g と，スクロースを 0 g ， 3 g ， 5 g 加えたものを用意し，それぞれの溶液とゾウリムシ培養液を 3 枚のスライドガラスに $2\mu\text{L}$ ずつ入れ，光学顕微鏡($\times 600$)で観察する。

3. 実験結果

① ミドリムシでの実験

金属片を入らなかった場合は内，外ともに個体数は 6 であった(対照実験)。鉛，マグネシウムは我々の予想に反して内の個体数の方が多かった(鉛：内 5 外 2 マグネシウム：内 5 外 3)。亜鉛とアルミニウムに関しては我々の予想通りの結果が得られた(亜鉛：内 4 外 13 アルミニウム：内 8 外 17)。特筆すべきは銅である。内，外共に生存している個体数は 0 であった。以後基本的に，使用する金属は銅に絞り，また生体は扱いやすいゾウリムシに変更して実験を進めていった。

② 金属イオンがゾウリムシに与える影響

i) NiCl_4 と MgCl_2 での実験

NiCl_4 水溶液を加えると 1 分 30 秒後からゾウリムシが俊敏に動き始めた。2 分後には一部のゾウリムシの動きが止まり始め，4 分後にはほとんどのゾウリムシが止まった。そこで 4 分 30 秒後に 0.1 mol/L MgCl_2 水溶液 $75 \mu\text{L}$ を入れた。その後止まっていたゾウリムシは少しずつゆっくり動き始めた。これは文献調査通りの結果である。

ii) CuCl_2 と MgCl_2 での実験

先程の NiCl_4 水溶液の代わりに 0.3 mmol/L CuCl_2 水溶液 $75 \mu\text{L}$ を加えた。 CuCl_2 水溶液を加えると，すぐにゾウリムシは体の先端が円を描くような(お尻を振るような)運動を開始した。(図 1) この運動のことを「回転運動」と呼ぶことにする。5 分 45 秒後にゾウリムシは通常の螺旋運動に戻り始めた。この螺旋運動を「直線運動」と呼ぶことにする。10 分後に 0.1 mol/L MgCl_2 水溶液 $75 \mu\text{L}$ を入れた。すると 13 分後にはほとんどのゾウリムシが直線運動に戻った。その後も観察を続けていくと，14 分 30 秒後にはほとんどのゾウリムシが動かなくなり，16 分後にはすべてのゾウリムシの動きが止まった。これらの実験から CuCl_2 水溶液を加えたときゾウリムシはお尻を振るような特有の動きをすることがわかった。この動きは開始後しばらくするとおさまり始めた。そして最終的に動きは止まった。このことは CuCl_2 水溶液の濃度に関係があるのか，または CuCl_2 水溶液を入れる回数に関係があるのかと考え，次の実験を行なった。

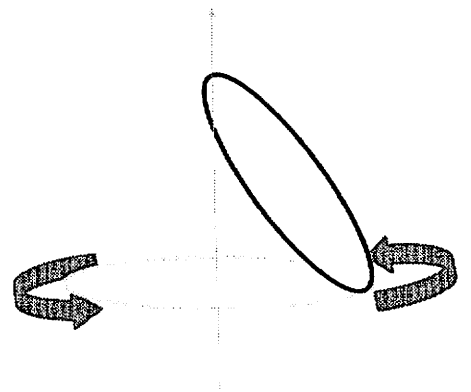


図 2 ゾウリムシの回転運動

iii) 濃度との関係

5.0 mmol/L 水溶液の場合はゾウリムシはすぐに回転運動を開始し，1 分 20 秒後に停止した。 1.0 mmol/L ， 0.50 mmol/L ， 0.30 mmol/L ， 0.10 mmol/L の場合はすぐに回転運動を始め，だんだん直線運動に

戻っていった。0.050mmol/L の場合、しばらくしてから回転運動を開始し、その後直線運動に戻った。これらの実験結果から、ゾウリムシの動きへの影響は濃度が高いほど大きいことがわかる。

続いて回数についての実験を行った。加える水溶液の合計量は 75 μ L に保ち、入れる回数を分けた。回転運動を始めてから通常状態に戻るまでに要する時間を計測し、まとめたのが下の表である。ここでいう「加える」とは水溶液を加えゾウリムシが動き始め、その動きが止まってから再び加えるということである。この表より、量を小分けにして回数を増やすほど通常状態に戻るまでに要する時間が短くなっていることがわかる。また二次的ではあるが、ゾウリムシの回転運動は、加える水溶液の量にはほとんど依存しないこともわかる。

表 CuCl₂を加えてから再び直線運動に戻るまでの時間

	75 μ L \times 1	37.5 μ L \times 2	15 μ L \times 5
1 回目	262	253	246
2 回目		158	118
3 回目			30
4 回目			9
5 回目			1

(縦は加えた回数、横は一回あたりに加えた CuCl₂ 水溶液の量 表の中の時間の単位は秒)

iv) 高濃度での実験

どの水溶液のゾウリムシも停止した。以下はその様子の写真である。0.1mol/L CuCl₂を入れたときだけ繊毛が逆立っているように見えた。このことに深い興味を持ち、繊毛について調べていった。

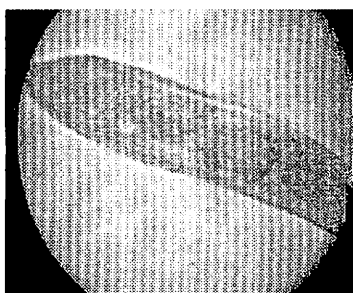


図 3 0.1 mol/L NiCl₄ 水溶液におけるゾウリムシ

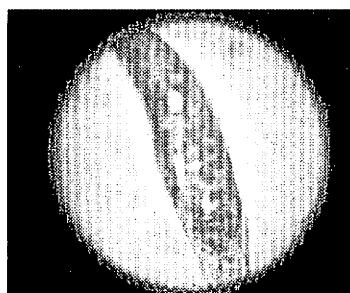


図 4 0.1 mol/L BaCl₂ 水溶液におけるゾウリムシ

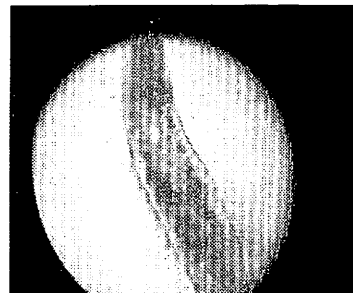


図 5 0.1 mol/L CuCl₂ 水溶液におけるゾウリムシ

③ 繊毛について

0.5 mmol/L CuCl₂ 水溶液を加えると、②で実験を行った通りにすぐにゾウリムシはお尻を振るような独特の動きを見せ、前進運動の速度が一時的に上昇した。その後も観察を続けると、水溶液を加えてから 9 分後に中の一個体が前進運動をやめた。その個体について観察を続けたところ、10 分経過した際に膨れ始めた(図 7)。他の個体についても観察を続けると、13 分経過時には殆どのゾウリムシが前進運動をやめて膨れた。そして、水溶液を加えてから 16 分後にはすべてのゾウリムシが破裂して動かなくなった(図 8)。

ここで目的としていた繊毛の動きの観察はあまりうまくいかなかった(ゾウリムシは移動するう

え、繊毛はもっと激しく運動するため)が、②で行った実験でゾウリムシがすべて止まってしまった理由が、ゾウリムシが破裂してしまったためであることが分かった。

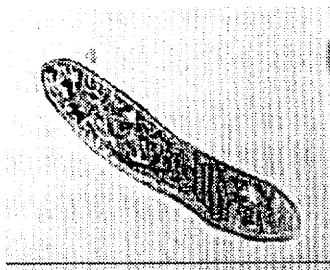


図 6 何も加えていない個体

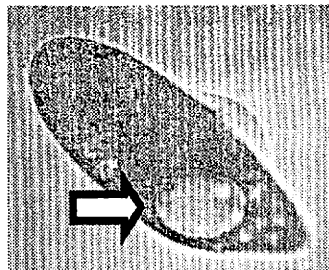


図 7 膨らんだゾウリムシ

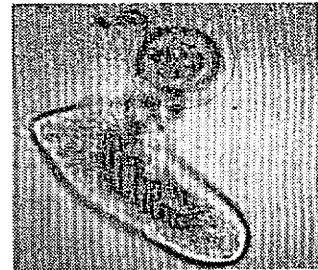


図 8 破裂したゾウリムシ

ここで図 7 の矢印の先の円形の部分に注目してほしい。破裂したゾウリムシはみな、図 7 のように内側から円形の部分が膨らんでいた。また、時間が経過するにつれて大きくなっていったことから、この部分が収縮胞で、ゾウリムシが破裂したのが収縮胞の機能が失われた結果であると予想し、次の実験④に臨んだ。

④ 浸透圧を変えて実験

スクロースを加えなかった水溶液を加えたときは、③と同じような結果が得られた。

スクロース 3g 加えた水溶液ではゾウリムシは 6 分ほどで前進運動を止めた。何も加えていない個体(図 6)その後少し膨らんだが、先ほどのように破裂する個体はなかった。それに加えて、前進運動を止めた際に繊毛が逆立っているようにみられる個体がみられ、その一部では痙攣したような動きを見せるものがあった。なお、その時逆立った繊毛は動いていなかった(図 9)。

スクロース 5g 加えた水溶液ではゾウリムシは殆ど膨らまなかった。この実験でも前進運動を止めた個体の繊毛は逆立っていた(図 10)。

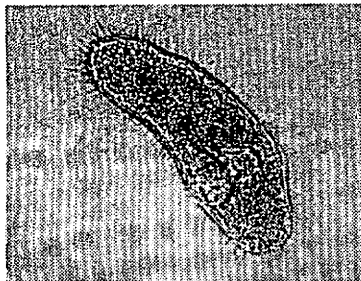


図 9 スクロース 3g 加えた水溶液におけるゾウリムシ

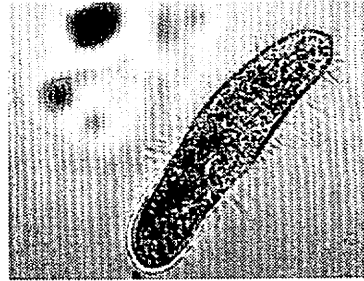


図 10 スクロース 5g 加えた水溶液におけるゾウリムシ

結果として、スクロースを加えてまわりの溶液の浸透圧を大きくすると、ゾウリムシは破裂しなかった。また、スクロースの濃度が大きいほうがゾウリムシの膨らみが小さかった。

4. 考察

ミドリムシを使った実験では、全個体が死亡してしまった。そこで我々は銅イオン(II)に着眼して、研究を進めた。その結果、ミドリムシに対してもゾウリムシに対しても銅イオン(II)が何らかの影響を及ぼすことが分かった。

ゾウリムシについてはお尻を振るような特異な動きをみせた。このことから銅イオン(II)がゾウリムシの繊毛に何らかの影響を及ぼしていたことが分かった。回数を分けて実験したところ、ゾウリ

ムシの動きが通常の動きに戻るまでの時間が短くなっていったことから、ゾウリムシに銅イオン(II)に対する耐性ができていたことが予想される。その耐性がどのようにして発現したのかは、実験方法が想定できず、解明することができなかった。また、銅イオンの濃度が低くなるとゾウリムシの動きへの影響が小さくなっていったが、濃度は変化させずに量を少なくしても、あまり影響が変わらなかったことも解決できなかった疑問の一つである。それに加えて、繊毛の観察をするために光学顕微鏡を使った実験では、粘度の高いメチルセルロースを加えて動きを止めて繊毛を確認しようとしたが、繊毛は予想以上に細かく、絶えず動いていることや、 CuCl_2 水溶液があまり浸透しなかったことから銅イオンが繊毛にどう影響するか詳しく観察できなかった。

その後、メチルセルロースを加えずに実験したところ、ゾウリムシの収縮胞が膨らんで、やがて全体が破裂したのを観察できた。さらに見解を深めるため、 CuCl_2 水溶液にスクロースを加えたもので実験したところ、ゾウリムシの収縮胞は膨らまず、また破裂もしなかったことから、ゾウリムシが破裂したのは体内に入り込んできた水分によるものだと分かった。また、ゾウリムシが前進運動をやめた後、繊毛が逆立ったように見え、さらに動かなくなることも分かった。銅イオン(II)はゾウリムシの収縮胞の働きを阻害し、水分の能動輸送をできなくするという考察にたどり着いた。収縮胞が膨らんでいたことから、収縮胞に水分を送り込むことはできるが、集めた水分を排出できないということが予想できる。また、繊毛に別個に働きかけて逆立たせて、繊毛の機能を失わせることも分かった。この現象は高濃度の CuCl_2 水溶液を加えた直後にも見られた。

ここで、なぜ高濃度の CuCl_2 水溶液ではすぐに繊毛が逆立ったのかは解明できなかった。

また、繊毛が逆立つ現象が CuCl_2 水溶液を加えてから早期に見られる特異な動きの延長線上にある現象なのか、まったく違うプロセスで起こる現象なのかは解明できなかったが、我々は前者のほうが正しいと考察する。ゾウリムシは単細胞生物なので繊毛を動かすのにそれほど複雑なメカニズムがはたらいているとは考えにくいからである。

最後に、収縮胞に対する銅イオン(II)の影響であるが、これについては参考文献(文献②)によると、収縮胞では何種類かの酵素がはたらいてゾウリムシ体内の水分を外部に排出しているということなので、その酵素に対する銅イオン(II)の阻害度合いなどを調べれば解明できると思われる。

5. 結論

我々はゾウリムシを用いた実験で銅イオン(II)が生体に大きな影響を及ぼすと予測して、主に銅イオン(II)がゾウリムシに及ぼす影響について実験を通して解明してきた。

予想通り、銅イオン(II)にはゾウリムシの繊毛にはたらきかけて特異な動きをさせたり、繊毛そのものを逆立たせて運動する機能を失わせる効果があることと、収縮胞にはたらきかけて体内に入り込んでくる水分を能動的に排出する機能を失わせ、破裂させる効果があることが分かった。

しかし、実験の設備の限界や考察の限界があって調べられなかった現象や、実験時間の関係で何度も実験をすることができなかったことから、正確なデータが取れなかったことなどが反省すべき点である。

我々のこれからの目標としては、ひとつ目に、ゾウリムシに 0.3 mmol/L CuCl_2 水溶液を加えてすぐに、お尻を振るような動きをするときに見られる繊毛に対する銅イオン(II)の働きと、繊毛が逆立って動かなくなったときに見られる銅イオン(II)の働きを詳しく調べ、これら二つの現象に関連があるのか、あるいは独立した現象なのか調べることである。この現象についての実験はまだ想定できていない。少しでも解明できるように努力したい。もうひとつは銅イオン(II)がゾウリムシの収縮胞

に及ぼす影響を詳しく調べることである。これについては先に述べたとおり、収縮胞の排水機能には様々な酵素が関係しているということから、それらの酵素の働きが銅イオン(II)によって阻害されるかどうかを調査すればどのようなメカニズムで収縮胞の働きが阻害されるのかが解明できると予想する。ゾウリムシのような単細胞生物と同様のことが、ボウフラなどの多細胞生物でも現れるかについても今後の課題となる。

6. 謝辞

生物科の 佃先生 安井先生 喜多村先生 野口先生 國津先生 長野先生 高木先生
私たちの実験を温かく見守っていただき、ありがとうございました。

7. 参考文献

①慶応義塾大学 生化学実験/ゾウリムシの繊毛運動と金属イオン

(http://www.sci.keio.ac.jp/gp/FE14F344_F0C5E134.html)

②ゾウリムシの収縮胞複合体

(<http://www.soc.nii.ac.jp/jsproto/journal/jjp39/157-172.pdf#search='ゾウリムシ 収縮胞'>)

表皮常在菌の研究

青木健悟 中原健人 山崎大地

1. 緒言

初期の実験の目的は人間の体のどの部位に菌が多く存在するのかを調べるために、色々な部位から菌を採取し、デンプン培地で培養し観察する、というものだった。

中間発表以降は培養した菌がどのような種類に分類されるかを、LA 培地、グラム染色を用いて実験を行った。

LA 培地とは、乳酸菌の検出を目的とした培地で、乳酸菌検出率が高く、見た目でも乳酸菌がいるかいないかを簡単に判定できるものである。25℃で48時間培養することで、さまざまな乳酸菌を高い検出率で捉えることができる。乳酸菌が増殖すると紫色から黄色に変色する。

また、グラム染色とは、主として細菌類を染色によって分類することができるものである。グラム染色によって細菌類は大きく2種類に大別される。

この二つの実験によって、菌の分類を行うことを目的として実験を行った。

2. 実験手順

実験 1

頭皮、鼻腔、耳の穴、舌、手のひら、脇、へそ、尻、足の裏など体の各部の菌をペーパーディスク(φ8 mm)でこすって採取し、そのペーパーディスク(φ8 mm)を寒天培地の上に置いて30℃で培養した。数日後、培地を取り出し、菌のコロニーの大きさ、形状を記録する。

寒天培地の作り方

ここで我々が使用した寒天培地の作り方を記述する。

水(蒸留水)1Lに対してポテトデンプン粉末を39グラムの割合で加え、沸騰寸前まで加熱し、完全に溶かす。溶かした培養液をかきまぜながらφ90 mmのシャーレに流し込み、ラボ・オートクレーブ(三洋電機バイオメディカ株式会社)を用いて121℃で15分間滅菌する。

実験 2

実験1で舌、脇の菌のコロニーの発生が特に多く見られたので、そのうちの舌の菌を使った実験を行った。まず、口内を口内洗浄液(オーラツーマウスウォッシュV サンスター株式会社)でゆすいだ直後の状態、口内を口内洗浄液でゆすいだ30分後の状態、最初から何もしていない状態の、3通りの状態の舌の菌を採取し、それらを寒天培地で培養して観察し、比較する。

実験 3

グラム染色で菌の判別を行った。グラム染色とは染色された色によってその菌が陰性なのか陽性なのかを判別できる染色方法である。染色した結果、Fig.1のように菌が青紫色に染色されればグラム陽性菌(ブドウ球菌、乳酸菌など)、赤紫色に染色されればグラム陰性菌(大腸菌など)であることがわかる。Fig.1では濃い色が青紫色、薄い色が赤紫色に染色されている。尚、グラム陽性菌は酸性下で発生しやすく、グラム陰性菌は塩基性下で発生しやすい。

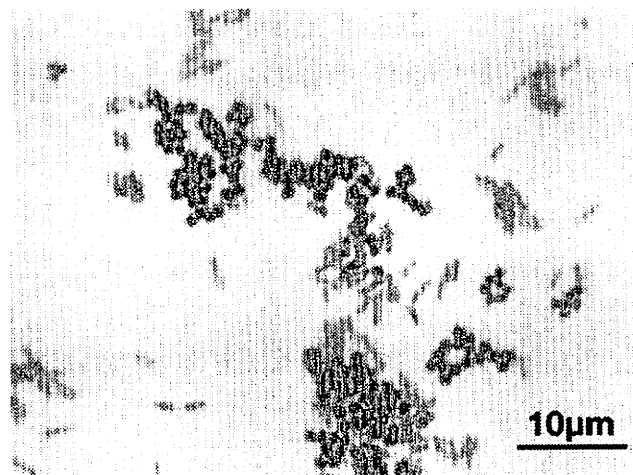


Fig.1 グラム染色の例

グラム染色の方法は以下の通りである。

横 25 mm, 縦 75 mm のスライドガラスに白金耳で 1 滴水を取った後, 白金耳を火炎滅菌し, 冷却後, シャーレの培地から脇, 鼻腔, 口腔の菌材料を取る。菌材料をスライドガラス上の水滴に混ぜ, 薄く曇る程度に薄く塗り広げる。塗り広げたスライドガラスは室温で自然乾燥させる。乾燥したときに向こうが薄く透けて見える程度がよい。乾燥したら, スライドガラスをピンセットではさんで, ガスバーナーの火炎中を 2, 3 回通過させて固定する。これによって菌体がガラス面に固定される。

染色液ビクトリアブルー溶液(日水製薬株式会社)を十分にかけて 1 分間染色する。この段階では, 菌はグラム陽性と陰性に関わらず紫色に染まる。1 分後, スライドガラスを裏返して水道水で静かに水洗する。直接水をかけず, 裏側に回っていく水で洗う。余分な染色液を除いたら, 水をよく切って, 脱色液のピクリン酸エタノール溶液(日水製薬株式会社)を十分につけ, ビクトリアブルー溶液の紫色が溶け出さなくなるまで, 数回繰り返す。ここでグラム陰性菌だけが脱色される。続いて, 先程と同様の方法で水洗し, 脱色液を除く。

赤色の染色液であるフクシンまたはサフラニン(日水製薬株式会社)を十分にかけて 1 分間染色する。この処理で両方の菌が赤染されるが, グラム陽性菌は先に染めた紫色が残っているため変化はない。脱色されたグラム陰性菌だけが赤色に染まる。続いて, 先程と同様の方法で水洗し, 余分な染色液を除く。

スライドガラスをろ紙で, こすらないように軽く押さえて水分を除き, 自然乾燥した後, 双眼顕微鏡(OLYMPUS OPTICAL CO)で観察する。

実験 4

LA 培地を用いて, 実験 1 で培養した菌の中から乳酸菌の検出を試みた。

作成方法

電子天秤(ザルトリウス株式会社)を用いて, LA 培地の粉末(プリマハム株式会社)25.9 g をとツイーン 80(キンダ化学株式会社)0.10 g を量り取る。

ビーカーにいれた蒸留水 500 ml をガスバーナーで 80 °C まで加熱し, そこに量り取った LA 培地の粉末とツイーン 80 をガラス棒でかき混ぜながら入れて溶かした。

溶液を植物培養試験管((株)相互理化学硝子製作所 φ 30 mm 高さ 100 mm 容量 50 ml)7 本に 3 分の 2 まで流し込んで, 常温で放置した。

培養方法

ガスバーナーで加熱殺菌した白金耳を用いて、実験 1 で作成したデンプン培地(Fig.2) で培養した菌を採取し、できあがった LA 培地に移植した。また、比較のために菌を移植しないままの培地も作成した。

インキュベータを用いて、LA 培地の菌を 25℃で 48 時間培養した。

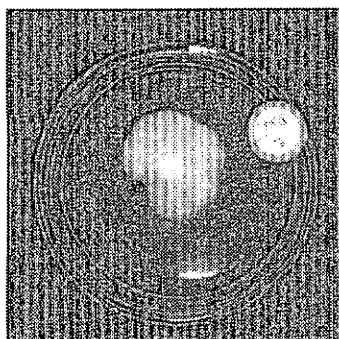


Fig.2 デンプン培地(実験 1 / 舌)

検出方法

培地が黄色に変色したときは陽性、紫色のままであれば陰性である。その様子をデジタルカメラで撮影した。

3. 実験結果

実験 1

実験結果を Table 1 にまとめた。ろ紙の周りに白い粒上のコロニーが多数発生したものを A, ろ紙を中心に白い塊のような、コロニーができたものを B とする。また実験後の培地を撮影したものが Fig.3 である。

Table 1 コロニーの大きさと形状 (実験 1)

	場所	菌のコロニーの量	菌のコロニーの種類
1	わき	多い	A
2	へそ	普通	A
3	耳の穴	普通	A
4	手のひら	普通	A
5	尻	少ない	A
6	頭皮	普通	A
7	足の裏	少ない	A
8	舌	多い	B
9	鼻腔	普通	A

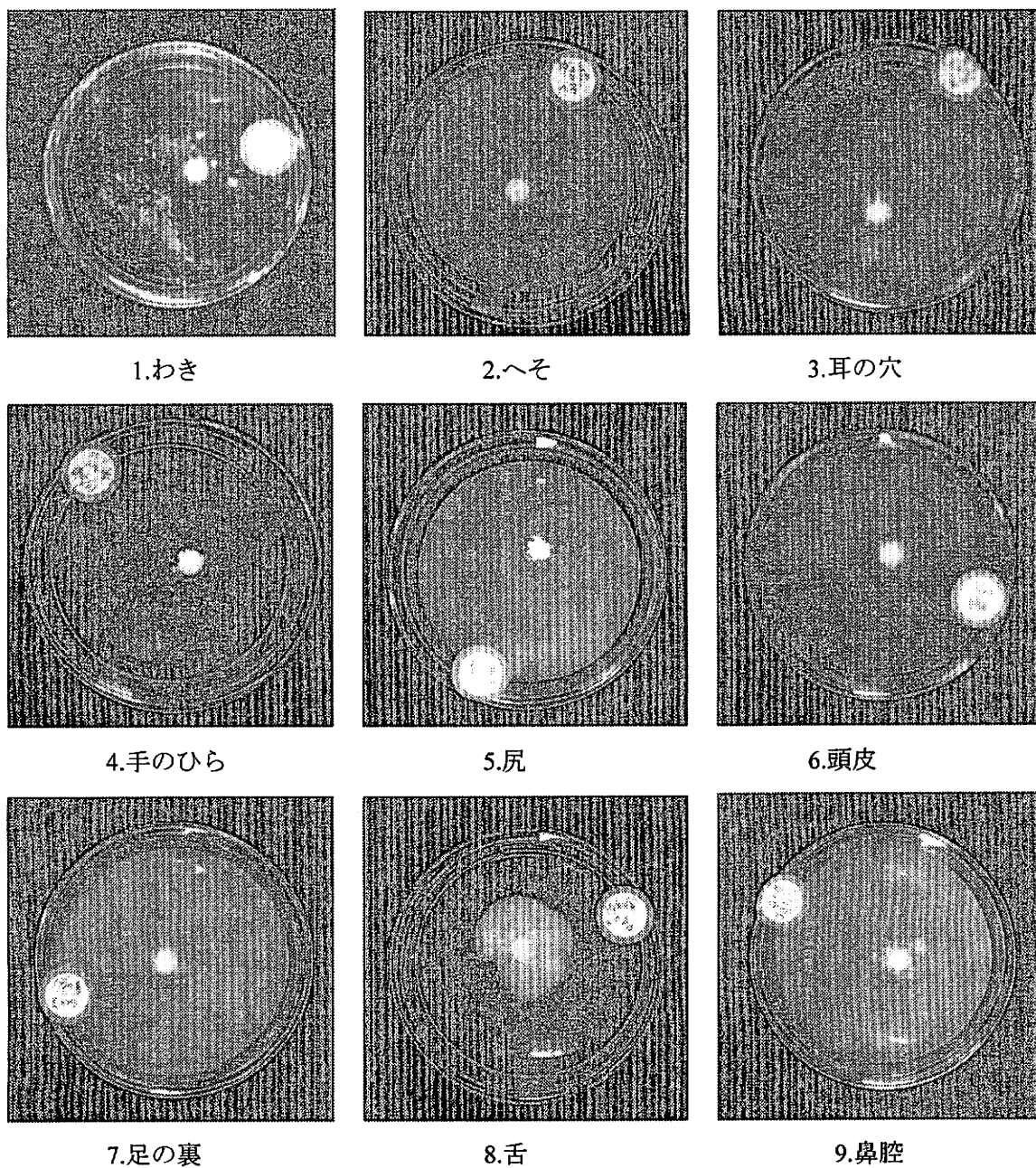


Fig.3 コロニーのできた寒天培地(実験 1)

実験 2

実験 2 の結果を Fig.4～Fig.6 に示す。 口内洗浄液の使用直後は菌の発生が少なく、ゆすいだ 30 分後では菌の発生が多く、何もしていない状態では菌の発生が多かった。

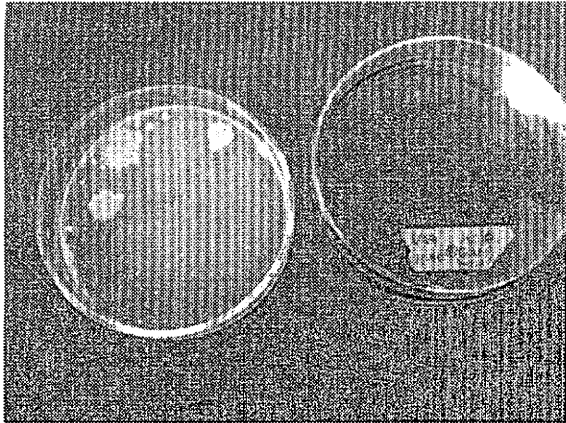


Fig.4 口内を口内洗浄液でゆすいだ直後

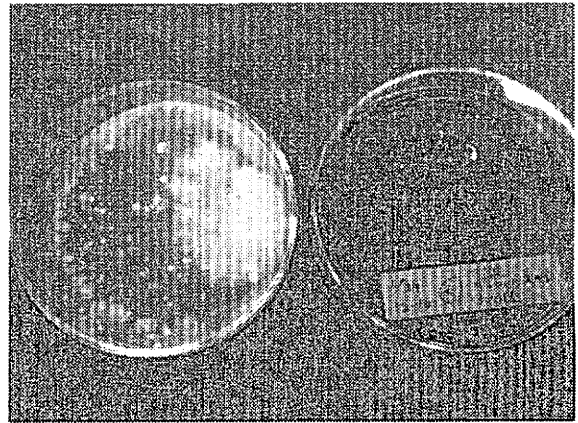


Fig.5 ゆすいだ 30 分後

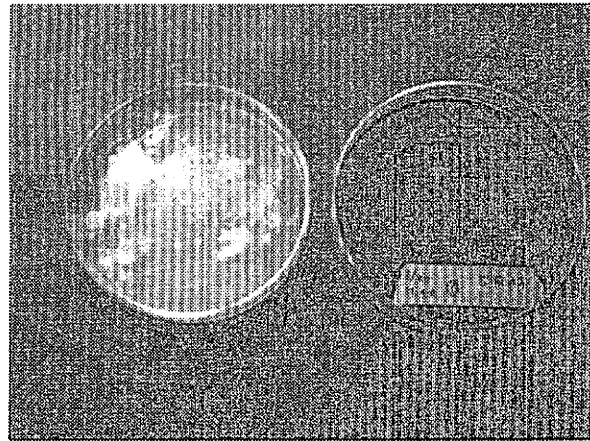


Fig.6 何もしていない状態

実験 3

Table 2 のような結果になった。◎は大量に発生、○はよく発生、△は少し発生、×は全く発生しなかったことを表す。

細菌の分布(グラム染色による)

	脇	鼻	口腔
グラム陰性菌	○	◎	△
グラム陽性菌	△	○	×

実験 4

25℃で 48 時間培養した後の LA 培地の色の变化は Fig.8 のようになった。

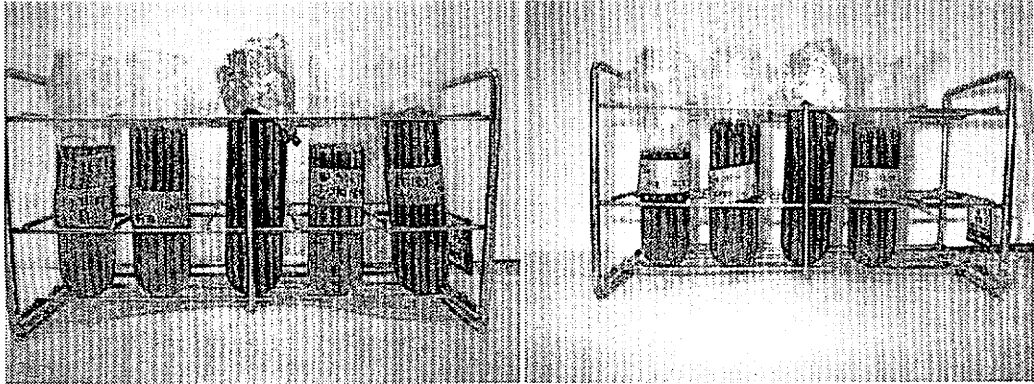


Fig.8 LA 培地(25 °C 48 時間培養)

Fig.8 は左から鼻, 手の甲, 移植なし, 口腔(黄色コロニー), 口腔(白色コロニー), 脇, 手のひら, 移植なし, 頭皮である。LA 培地の色の变化を下の Table 3 にまとめた。写真では, 黄色部分は白く, 紫色の部分は黒く写っている。

Table 3 LA 培地の色の变化

採取場所	培地の色
鼻	全体的に黄色
手の甲	底のみ黄色
口腔(黄色コロニー)	全体的に黄色
口腔(白色コロニー)	紫色のまま
脇	全体的に黄色
手のひら	底のみ黄色
頭皮	底のみ黄色
移植なし	紫色のまま

4. 考察

考察 1

Table.2 より我々はわき, 舌で採取したものに多くのコロニーができていたので, そのような湿った場所に菌が多く存在するのではないかと考えにたどりついた。

また, 舌で採取した菌のみが B の形状のコロニーであったことより, 舌で他の箇所とは違う種類の菌が存在すると思われる。

考察 2

実験 2 より, 口内洗浄液使用直後は菌の数が減少することがわかった。しかし, 使用後から少なくとも 30 分たつと, 何もしていない状態とほぼ同じ程度のコロニーが出現し, その効果は続かないことがわかった。

考察 3

鼻腔ではグラム陽性菌もグラム陰性菌もよく発生していることから、鼻腔はグラム陰性菌もグラム陽性菌も存在しやすい環境であることがわかった。口腔はグラム陽性菌もグラム陰性菌もあまり発生していないことから、グラム陽性菌もグラム陰性菌も存在しにくい環境であることがわかった。

考察 4

比較用として菌を移植しなかった LA 培地は全く変化していないので、青色から黄色への変化は乳酸菌によるものである。

培地全体が黄色になった鼻、口腔(黄色コロニー)、脇は乳酸菌が比較的多く存在していることを示している。

培地の底だけが黄色になった手の甲、手のひら、頭皮に乳酸菌の存在が比較的少ないと思われる。

培地が紫色のまま変化しなかった口腔(白色コロニー)には乳酸菌がほとんど存在しないと予想される。

つまり、口腔から得られた黄色コロニーは乳酸菌から構成され、白色コロニーは乳酸菌以外の菌で構成されていると考えられる。

5. 結論

私たちは培養した菌がどのような種類に分類されるかを、LA 培地、グラム染色を用いて実験を行ったが、菌の種類を特定するなど精度の高い結果が得られなかったのは残念である。また、抗生物質を使った実験、より詳しい菌の判定など、時間が足らずやり残した実験を行うのが次の課題である。

6. 参考文献

石川雅之「もやしもん」(講談社) 2004年7月～

7. 謝辞

私たちの担当をしてくださり、数々の助言を与えてくださった喜多村滋先生、また、研究に便宜を図ってくださった SSH の先生方、ありがとうございました。

果実中のタンパク質分解酵素活性の比較

平山智章

1. 緒言

ゼラチンを使ってパイナップルゼリーを作ろうとしても固まらない。これはパイナップルに含まれるタンパク質分解酵素の働きにより、動物性タンパク質から作られているゼラチンが溶かされるからである。

キウイフルーツやパイナップルなどは一般にタンパク質分解酵素の働きが知られているが、そのほかの果物にも活性があるのではないかと考え、いろいろな果物のタンパク質分解酵素活性について研究することにした。

タンパク質分解酵素とはペプチド結合を分解する酵素であり、いろいろな果物に含まれるタンパク質分解酵素活性について調べることで、その中でも活性のより強いものを知ることができる。これによって、より多くのタンパク質を分解する、すなわちタンパク質を含む食品の消化を助けてくれる果物が分かると考えられる。

今回の研究ではタンパク質の分解で生じたアミノ酸の量を測定、比較することで酵素活性の強弱を判定した。すなわち果汁を加え反応させたタンパク質試料の吸光度の値とブランクとして果汁の代わりに蒸留水を加え、同様の操作を行ったものとの吸光度の差をタンパク質分解酵素活性とした。

いろいろな果物について測定、比較する上でどの果物についても加える果汁の量を一定にする必要があるので、まずはタンパク質分解酵素の存在が知られているキウイフルーツを用いて酵素活性の測定を行った。この実験の結果、加えた果汁の量と吸光度の値が比例するような関係が見られる。同時にいろいろな果物について比較する上で加える果汁として適当な量を決定することにした。ここでいう適当な量とは、いろいろな果物の果汁を加えた際の吸光度の値が極端に大きかったり、小さかったりしないような量のことである。

加える果汁の量を決定した後色々な果物の酵素活性を測定比較することにした。

2. 実験 I

まず初めにキウイフルーツの酵素活性の測定を行った。

① 実験手順

今回の実験ではアルブミン（卵製）（片山科学工業株式会社、最純）200 mg を蒸留水 20 mL で溶かしてアルブミン溶液を作製し、それをタンパク質試料として用いた。以後の実験で登場するタンパク質試料とはすべてアルブミン溶液のことである。

なお本来は果汁を加えたものの吸光度から果汁を加えなかったものを吸光度を差し引くことで酵素活性としたが、今回の実験では適当な果汁の量を決定することが目的であるので吸光度の値を差し引くことをせず、果汁 0 mL の値もそのままグラフで表した。

タンパク質試料 2 mL とマレイン酸ナトリウム 1 mL を加えた試験管を 6 本準備する。乳鉢、乳棒を用いてキウイフルーツをすりつぶし、医療用ガーゼで果汁を搾り出した後、用意しておいた 6 本の試験管にそれぞれ 0, 25, 50, 100, 150, 200 μ L 加える。

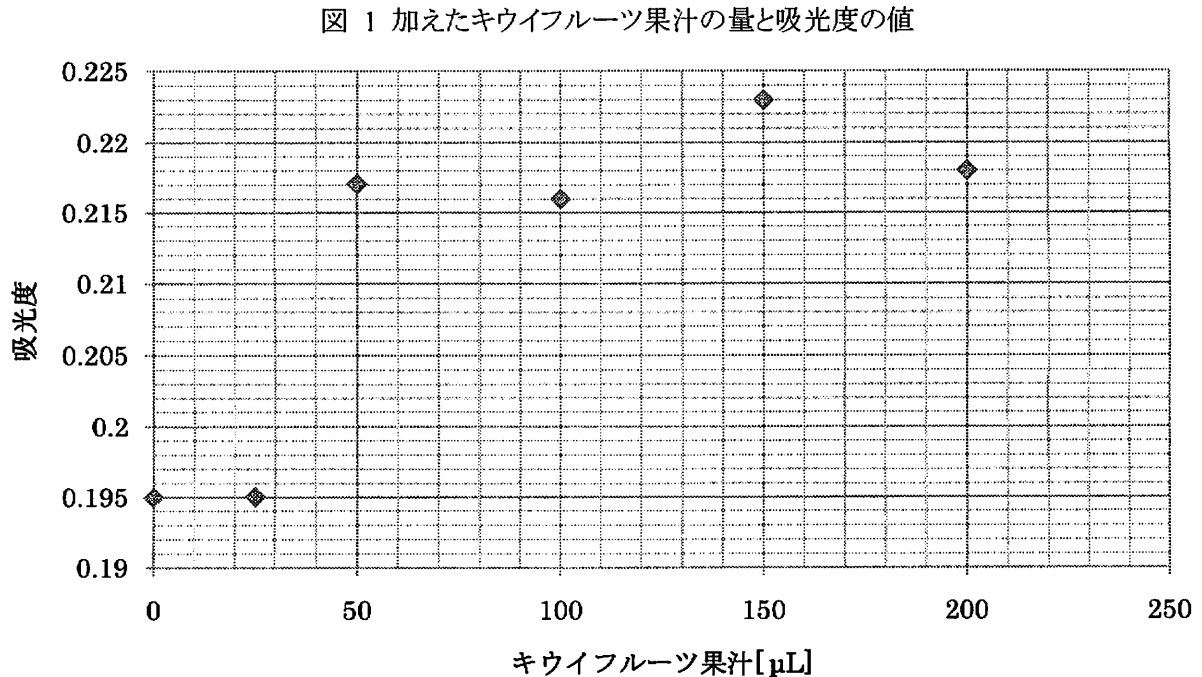
恒温器（Tokyo Seisakusho Kaisha, ADOVANTEC）とコンテナ（DIC プラスチック株式会社, F-2GR）で 5 分間、45 $^{\circ}$ C で反応させ、その後等量の 4 % トリクロロ酢酸溶液を加え反応を停止さ

せた。

反応停止後の溶液 0.2 mL と蒸留水 0.4 mL, フェノール試薬 0.4 mL, Reg (2 % Na_2CO_3 in 0.1 N NaOH : 0.5 % CuSO_4 : 1 % $\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7 = 50 : 1 : 1$) 3 mL を混合し, 20 分間反応させ後, 分光光度計 (日本分光, UVIDEC-320) で波長 650 nm での吸光度を測定した。

② 実験結果

加えたキウイフルーツの量と吸光度の値を図にまとめた。



考えられた, キウイフルーツの果汁と吸光度の値が比例するような関係性は認められなかった。

③ 考察

原因として加える果汁の量が小さすぎたために, 果汁の量の差による吸光度の値に大きな違いが現れず, 両者の値が比例するような関係性が認められなかったと考えられる。

3. 実験Ⅱ

前回同様キウイフルーツの酵素活性の測定を行った。

新たに前回の実験で用いたタンパク質試料が古かったために死んでいたことが分かったので新しく作りなおした。また, 加える果汁の量を大きくして, 吸光度の値の違いがより分かりやすいようにした。

① 実験手順

タンパク質試料 2 mL とマレイン酸ナトリウム 1 mL を加えた試験管を 5 本準備する。乳鉢, 乳棒を用いてキウイフルーツをすりつぶし, 医療用ガーゼで果汁を搾り出した後, 用意しておいた 5

本の試験管にそれぞれ 0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 mL 加える。

恒温器 (Tokyo Seisakusho Kaisha, ADOVANTEC) とコンテナ (DIC プラスチック株式会社, F-2GR) で 5 分間, 45 °C で反応させ, その後等量の 4 % トリクロロ酢酸溶液を加え反応を停止させた。

反応停止後の溶液 0.2 mL と蒸留水 0.4 mL, フェノール試薬 0.4 ml, Reg (2 % Na_2CO_3 in 0.1 N NaOH : 0.5 % CuSO_4 : 1 % $\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7 = 50 : 1 : 1$) 3 mL を混合し, 20 分間反応させ後, 分光光度計 (日本分光, UVIDEC-320) で波長 650 nm での吸光度を測定した。

② 実験結果

加えたキウイフルーツ果汁の量と吸光度の関係を図にまとめた。

図 2 加えたキウイフルーツ果汁の量と吸光度の値

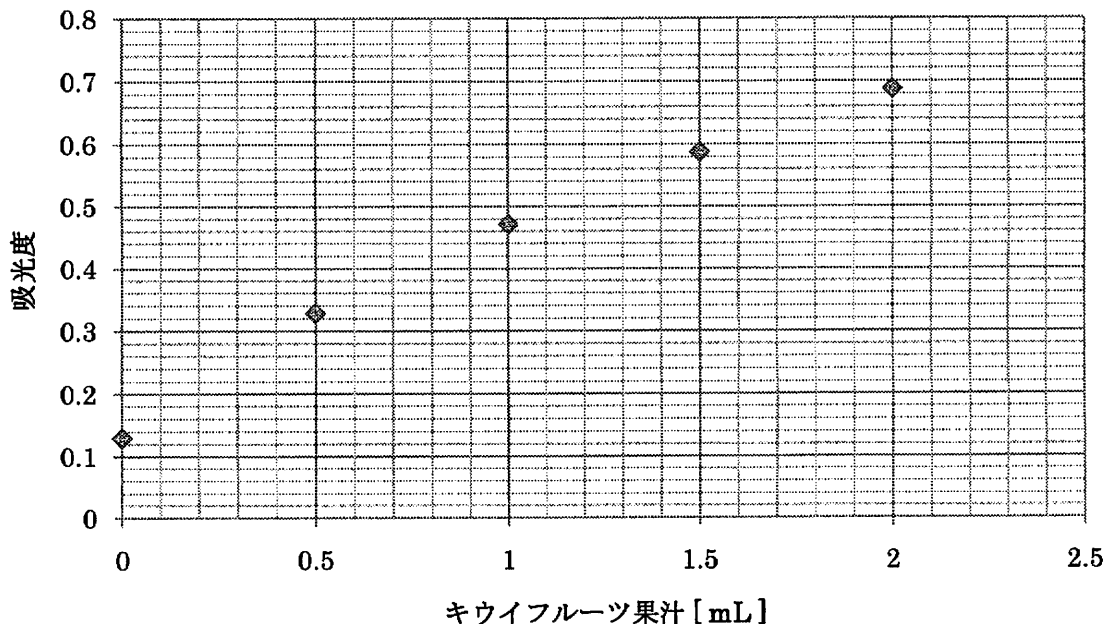


図 2 より加える果汁の量が増えるにしたがい吸光度の値も大きくなり, 両者の関係はほぼ比例していると考えられる。

③ 考察

キウイフルーツの果汁の量と吸光度の値がほとんど比例していたことから, 実験は仮説のとおりと考えられる。

今回の結果より, いろいろな果物の酵素活性の測定を行っていくうえで, 吸光度の値があまり小さすぎない適当な量として加える果汁を 1.5 mL とした。

4. 実験Ⅲ

スーパーで購入したイチゴ, パイナップル, マンゴー, ブルーベリー, リンゴ, ミカン, ミニトマト, ブドウ, バナナ, オレンジ, メロン, アメリカンチェリー, スイカ, アボカド, レモンの酵素活性

の測定を行う。

① 実験手順

先の実験より各々の果物について加える果汁を 1.5 mL とした。

タンパク質試料 2 mL とマレイン酸ナトリウム 1 mL を加えた試験管を用意し、それぞれの試験管に搾りだした果汁をどの果物についても 1.5 mL ずつ加える。

恒温器 (Tokyo Seisakusho Kaisha, ADOVANTEC) とコンテナ (DIC プラスチック株式会社, F-2GR) で 5 分間、45 °C で反応させ、その後等量の 4 % トリクロロ酢酸溶液を加え反応を停止させた。

反応停止後の溶液 0.2 mL と蒸留水 0.4 mL, フェノール試薬 0.4 mL, Reg (2 % Na_2CO_3 in 0.1 N NaOH : 0.5 % CuSO_4 : 1 % $\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7 = 50 : 1 : 1$) 3 mL を混合し、20 分間反応させ後、分光光度計 (日本分光, UVIDEC-320) で波長 650 nm での吸光度を測定した。

② 実験結果

表中 2 列目の「吸光度」とは果汁を加えたものの吸光度のことであり、同 3 列目の「ブランクの吸光度」とは果汁の代わりに蒸留水を加えたものの吸光度である。右端の列の「吸光度の差」が (吸光度) から (ブランクの吸光度) を引いたものであり、今回の研究におけるタンパク質分解酵素活性を示す。

各果物について酵素活性の強かったものを上から順に表にまとめた。

表 各果汁の波長 650 nm の $H\nu$ の吸光度 ($H\nu$: 光のエネルギー)

果汁 (果実)	吸光度	ブランクの吸光度	吸光度の差
イチゴ	0.850	0.156	0.694
キウイフルーツ	0.588	0.130	0.458
パイナップル	0.411	0.121	0.290
ミカン	0.390	0.120	0.270
チェリー	0.376	0.128	0.248
ブルーベリー	0.395	0.161	0.234
オレンジ	0.313	0.092	0.221
マンゴー	0.332	0.121	0.211
アボカド	0.325	0.120	0.205
バナナ	0.290	0.092	0.198
ミニトマト	0.285	0.108	0.177
リンゴ	0.295	0.120	0.175
レモン	0.255	0.125	0.130
メロン	0.227	0.128	0.099
ブドウ	0.236	0.148	0.088
スイカ	0.198	0.120	0.078

③ 考察

実験を行った日によってブランクの吸光度，極端に言えばタンパク質試料の吸光度に多少のばらつきが見られたが，一つ一つの果物で果汁を加えたものと代わりに蒸留水を加えたものに用いたタンパク質試料の条件は同じであり，一つ一つの果物ごとにその差の値を出したので結果に与える影響は少ないと考えた。

表から読み取れるように，イチゴの酵素活性が最も強かったのは意外であった。一般的に酵素活性があると知られているキウイフルーツ，パイナップルはやはり活性が強かった。他のものについてはそれほど大きな差は見られなかった。結果よりどの果物にも少なからず活性は確認できたが，表の下の方の果物などについてはほとんど差がないために普段取り上げられることがないのではと推測できる。

5. 結論

いろいろな果物に含まれるタンパク質分解酵素の活性を測定，比較することでより酵素活性の強い，すなわちより消化を助けてくれるような果物を知ることができると考え，今回はタンパク質の分解により生じるアミノ酸の量を測定，比較することでタンパク質分解酵素活性とした。

今回の研究ではイチゴが最も活性が強かった。

ただ，この研究では 45℃での反応と条件が限られている。また，今回は基質としてアルブミンを使用したタンパク質には様々な種類のものがあるため，今回の研究だけではタンパク質を含む食品の消化をより助けてくれる果物を特定するには不十分である。今後の課題としては他の基質についても調べてみることや，見つけ出した活性の強い果物を食品により効率良く作用させる方法を発見することなどがあげられる。

6. 参考文献

岡山大学農学部学術報告 vol. 92, 53-56 (2003)

7. 謝辞

実験を指導してくださった野口俊一先生，國津宗幸先生および生物科の教職員の方々に心よりお礼申し上げます。

スルメイカの解糖系酵素 Glycogen Phosphorylase b の部分精製とその性質

秋月悠一, 石亀貴欣, 大前一若, 尾崎友彦, 千田真彰, 山岡優

緒言

実験対象は解糖系酵素 Glycogen Phosphorylase b であり, グリコーゲン分解の最初の反応を触媒する酵素である。筋肉の Phosphorylase には a 型と b 型の 2 つのタイプがあり, b 型は AMP が存在しないと活性を示さないが, a 型は AMP (adenosine monophosphate: アデノシン一リン酸) に関係なく活性を示す。b 型は休止筋に, a 型は収縮筋に存在する。筋肉が運動するときに b 型は ATP (adenosine triphosphate: アデノシン三リン酸) と Mg^{2+} イオンと phosphorylase b-hinase という酵素によって a 型に変えられて活性化し, 解糖を促進させる。そして酵素の a 型と b 型の存在比が活性の調節を行い, 代謝調節の役目をする。

生体内の反応は以下ようになる。

glycogen(n glucosyl units) + inorganic phosphate

\rightarrow glucose 1- phosphate(G1P) + glycogen(n-1 glucosyl units)

本酵素はグリコーゲンの分解にのみ作用し, グリコーゲン合成反応は glycogen synthetase という別の酵素によって行われる。

更に, phosphorylase は解糖系の調節酵素で解糖速度を調節する作用を持っている。生体内の代謝に変化が起こるとき, その代謝系に関係する全ての酵素が調節を受けるのではなく, その内の key enzyme と呼ばれる幾つかの酵素がその調節支配をうける。この key enzyme は代謝上, 重要な位置にあり, 反応の最初の段階や反応の分岐点に位置する。そして酵素合成に関係する誘導や抑制を受けたり, また代謝物の種類及び量によってフィードバックの阻害, 活性の作用を受ける。

解糖系では, phosphorylase のほか, phosphofructokinase, pyruvatekinase が調節酵素の役割を持っている。

つまり, 筋肉の解糖系はグリコーゲンの分解に始まり, 乳酸の生成につながる。ATP 合成系であるので, このような酵素の諸性質を究明することにより, 糖代謝の調整機構の一端を知ることができ, 有用な知見が得られることが期待される。

筋肉グリコーゲン phosphorylase はウサギから Cori らによって分離され, 特異性が調べられて以来, 起源の異なるヒト, ラット, 変温動物ではエビ, ツノザメ, メジロザメから分離され, その調節能が調べられ, ウサギではほぼ完全に研究されている。

金属イオンは生活上, さまざまな状況に存在するため, 解糖系の key enzyme である phosphorylase に注目して, あまり知られていない軟体動物の例としてスルメイカ筋肉よりこの酵素を部分精製し, その諸性質を調べた。

先年度の本校での研究に於いて, 亜鉛イオンが Glycogen Phosphorylase b を低濃度で阻害することが明らかになり, 同学年の他の研究班でも銅イオンがゾウリムシに悪影響を与えることが判明した。また, 種々の動物の Glycogen Phosphorylase b の中には 2 価金属イオンによって活性が上がるものが存在する。

我々は, スルメイカの筋肉 Glycogen Phosphorylase b の場合も同じなのかどうかを調査した。

実験方法

1. 試料

函館産スルメイカ (*Todarodes pacificus*) を使用した。鮮魚店より購入したものを冷凍し、適時使用の時、半解凍して筋肉を採取した。

2. 活性測定法

酵素活性の測定は、左向き反応で G1P から遊離されるリン酸量を測定した。

反応組成液 (※1) を 25°C で 5 分間反応させ、反応停止液 (※2) を 5mL 加え、5 分間室温で放置した後、 Na_2CO_3 と NaOH の混液を 0.5mL 加え、20 分間室温で放置し、600nm OD を分光光度計で測定した (高橋法)。

ただし、 Mg^{2+} と Ca^{2+} については EDTA2Na を添加せずに実験を行った (表中*印)。

又、1u mol の基質と 1 分間で結合できる酵素濃度を 1 ユニット (1u) とする。

※1 反応組成液

0.1mol/L マレイン酸 buffer pH6.5 0.5mL

5% グリコーゲン 0.2mL

0.5mol/L G1P 0.1mL

0.05mol/L EDTA2Na 0.05mL

0.5mol/L フッ化ナトリウム 0.05mL

0.08mol/L AMP2Na 0.05mL

酵素 0.05mL

を混ぜて合計 1mL としたもの。

※2 反応停止液

①モリブデン酸アンモン 4g/100mL

②EDTA4Na 0.7g/100mL

③メチルヒドロキシルアミン塩酸塩 1.2 g

PVP25 2.45g

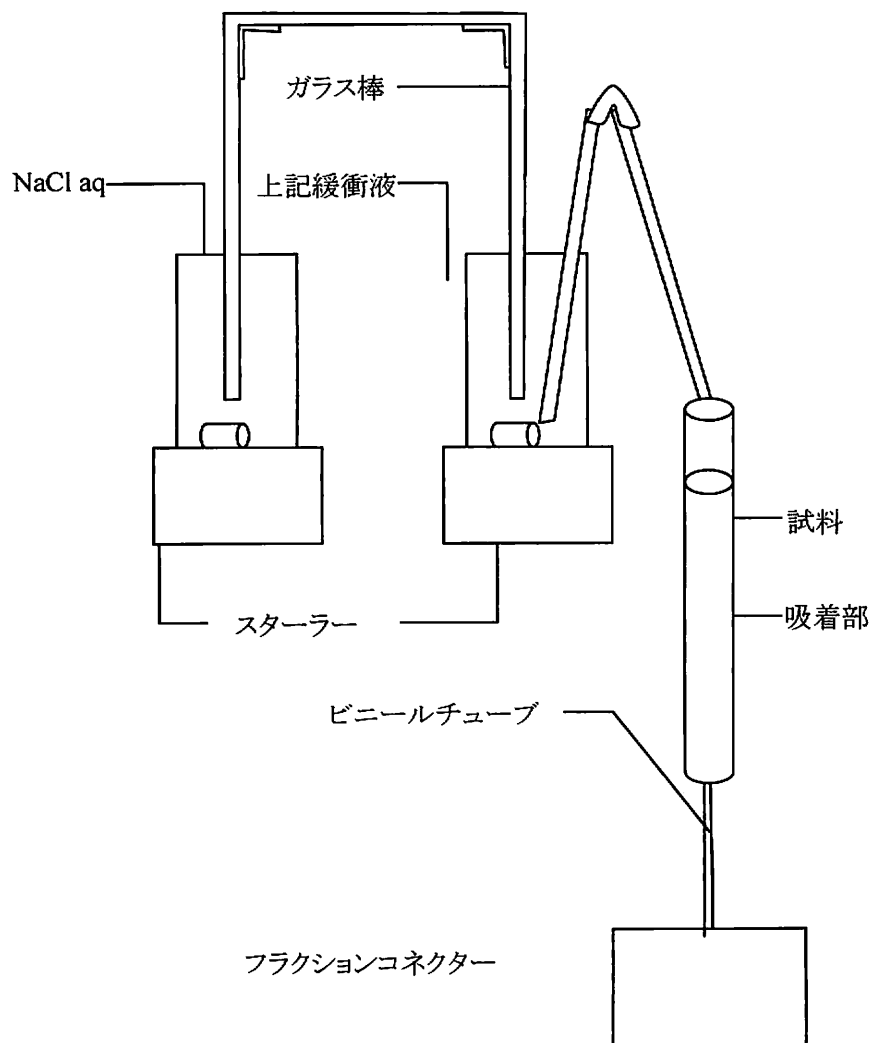
硫酸原液 1.54mL /100mL

を① : ② : ③ = 1 : 2 : 3 で混ぜたもの。

3. DEAE-セファデックスクロマトグラフィー

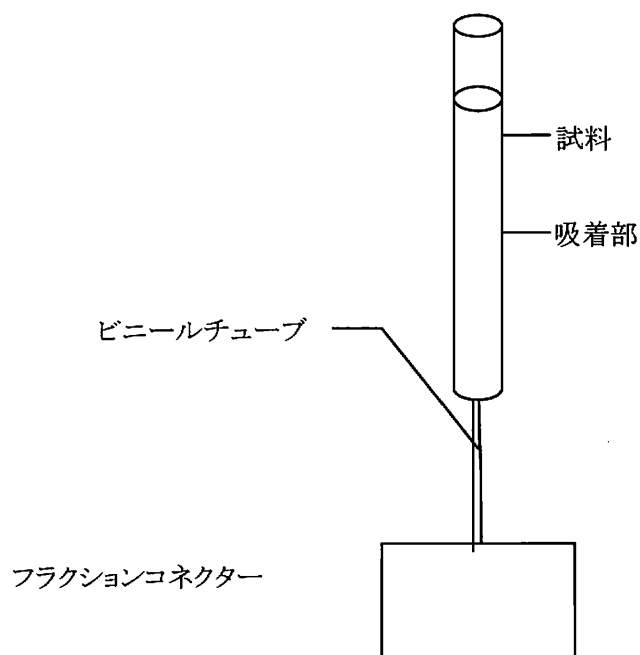
陰イオンイオン交換クロマトグラフィー。

イミダゾール塩酸 buffer (pH7.2) で平衡化した。溶出は 0.6mol/L 塩化ナトリウムで直線勾配によって行った。すべての精製操作は 4°C の冷室にて行った。



4. セファロース 4B クロマトグラフィー

分子ふるい効果を用いたクロマトグラフィー。分子ふるい効果により分子量の大きさの違いでタンパク質のセファロース通過時間に差が生じることを利用し、精製した。操作は 4℃ の冷室にて行った。



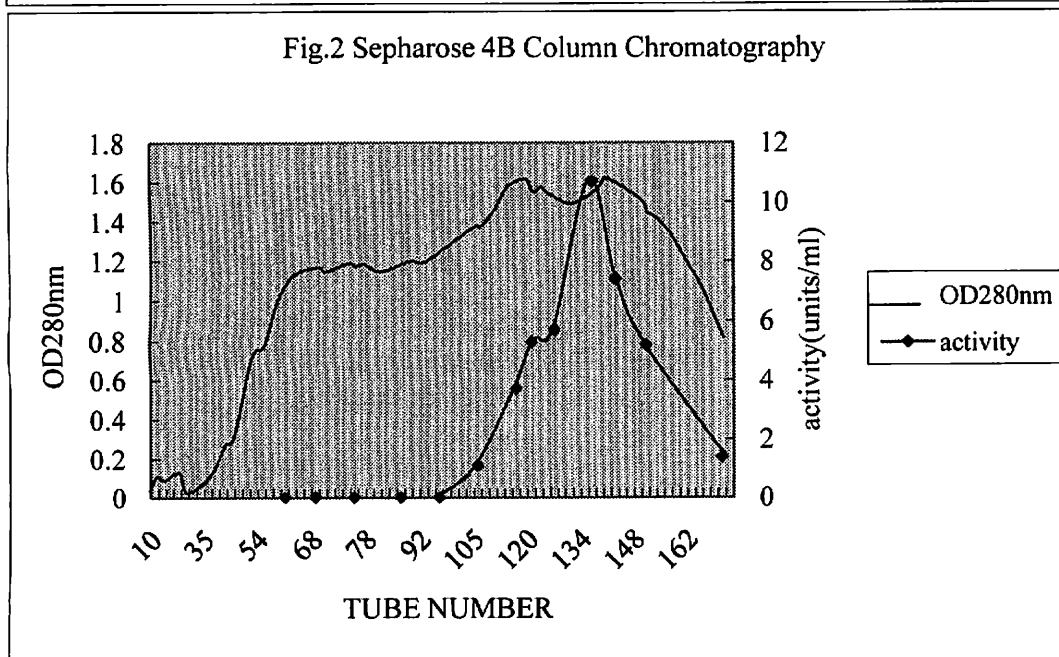
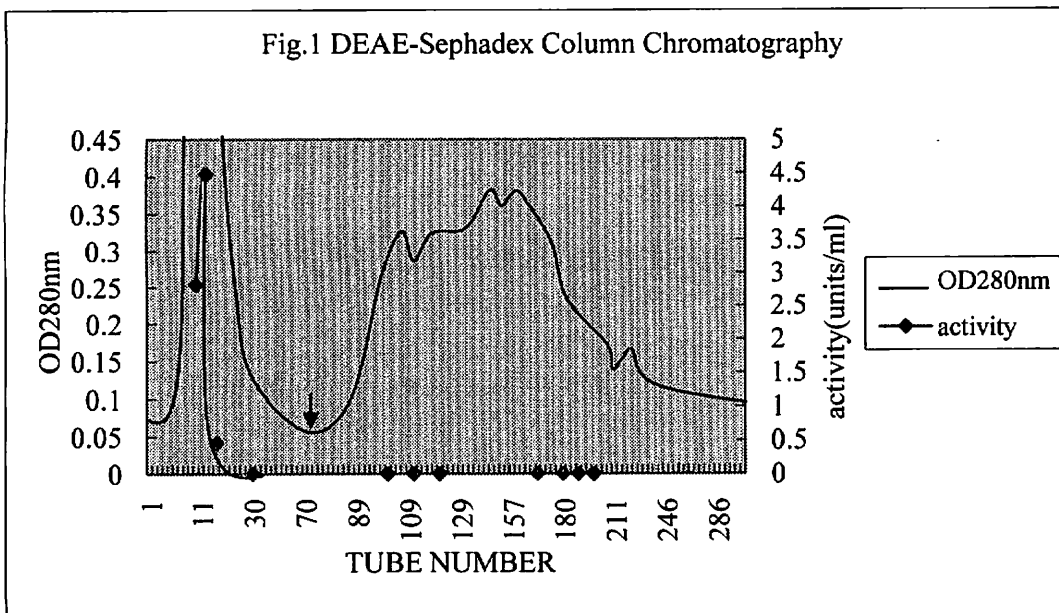
5. 塩析

60%飽和硫酸アンモニウムの添加により、蛋白質を沈殿させた。

実験結果

1, 部分精製法

凍結スルメイカ試料を室温で半解凍して、筋肉をミートチョッパーに三回かけて、緩衝液（三倍量の 0.005mol/L イミダゾール, 0.005mol/L メルカプトエタノール, 0.001mol/L EDTA 4 Na, pH7.2）で一時間攪拌抽出した。次に 14000rpm,30 分間の遠心分離で上清液を集め、60%飽和硫酸アンモニウムで塩析し、14000rpm,60 分間の遠心分離で沈殿を集めた。この沈殿を上記緩衝液で溶解した後、上記緩衝液で透析し、14000rpm,60 分間の遠心分離で上清液を集めた。この上清液をイミダゾール塩酸 buffer で予め平衡化してある DEAE-セファデックスカラムクロマトグラフィーにかけた。酵素活性は非吸着部分に見られた。（吸着する条件を検討する必要がある。）さらにその非吸着部分をセファロース 4B クロマトグラフィーで、分子ふるい効果を用いて精製した。

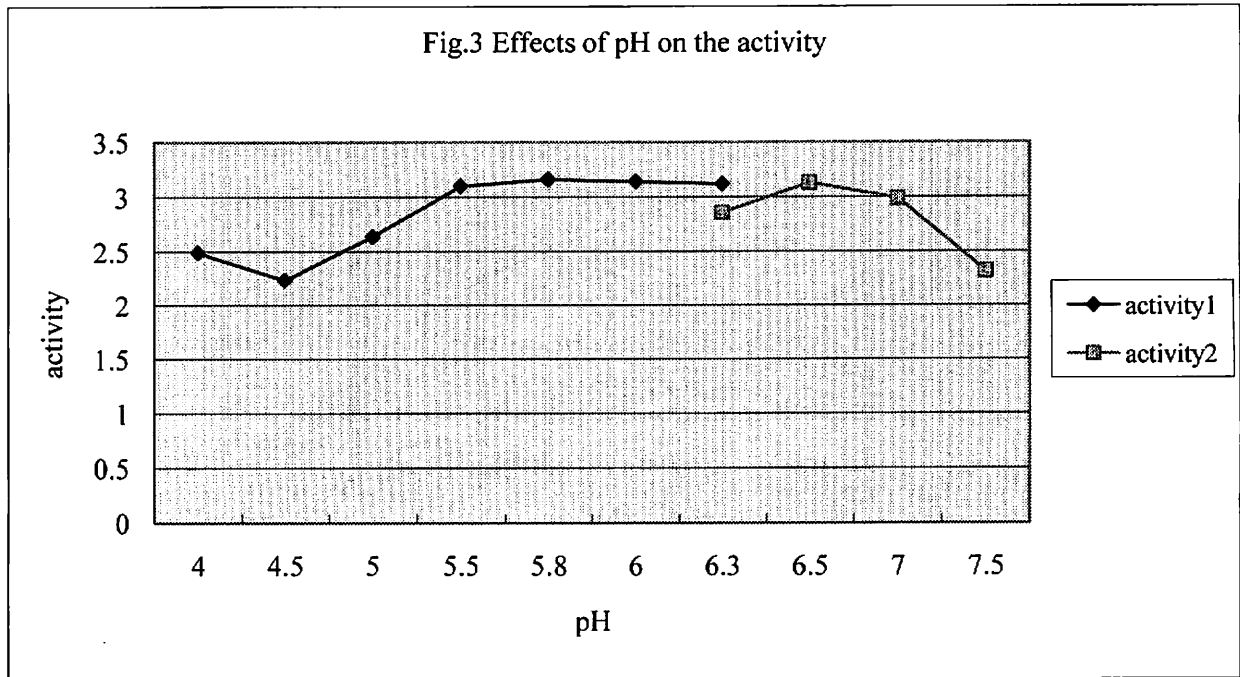


2, 酵素の触媒的性質

スルメイカ Glycogen Phosphorylase b の一般的な触媒的性質を検討した。

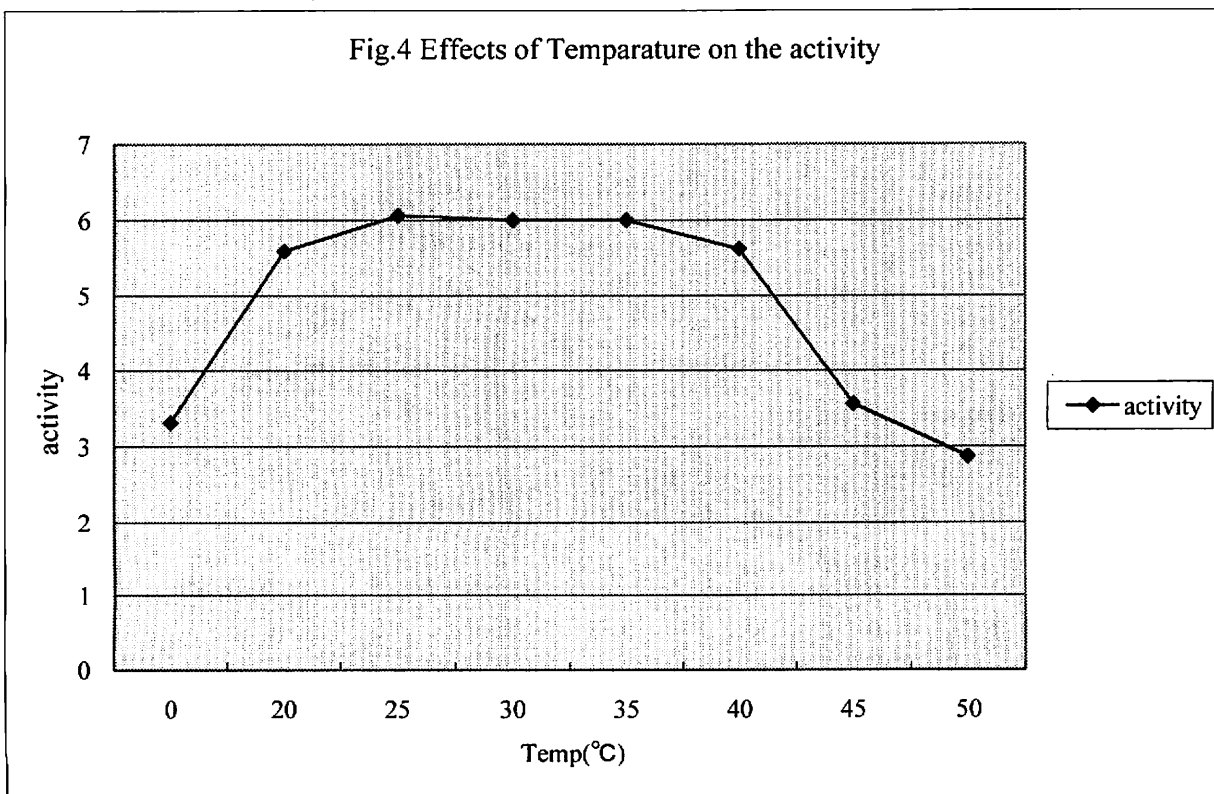
i) 最適 pH

部分精製した酵素液を用い、活性組成液の pH を pH4.0~6.3 の範囲ではクエン酸ソーダ緩衝液、pH6.3~7.5 の範囲ではイミダゾール塩酸 buffer で調節し活性を 25℃で測定すると、以下のような曲線が得られ、最適 pH は pH5.5~pH6.5 であった。



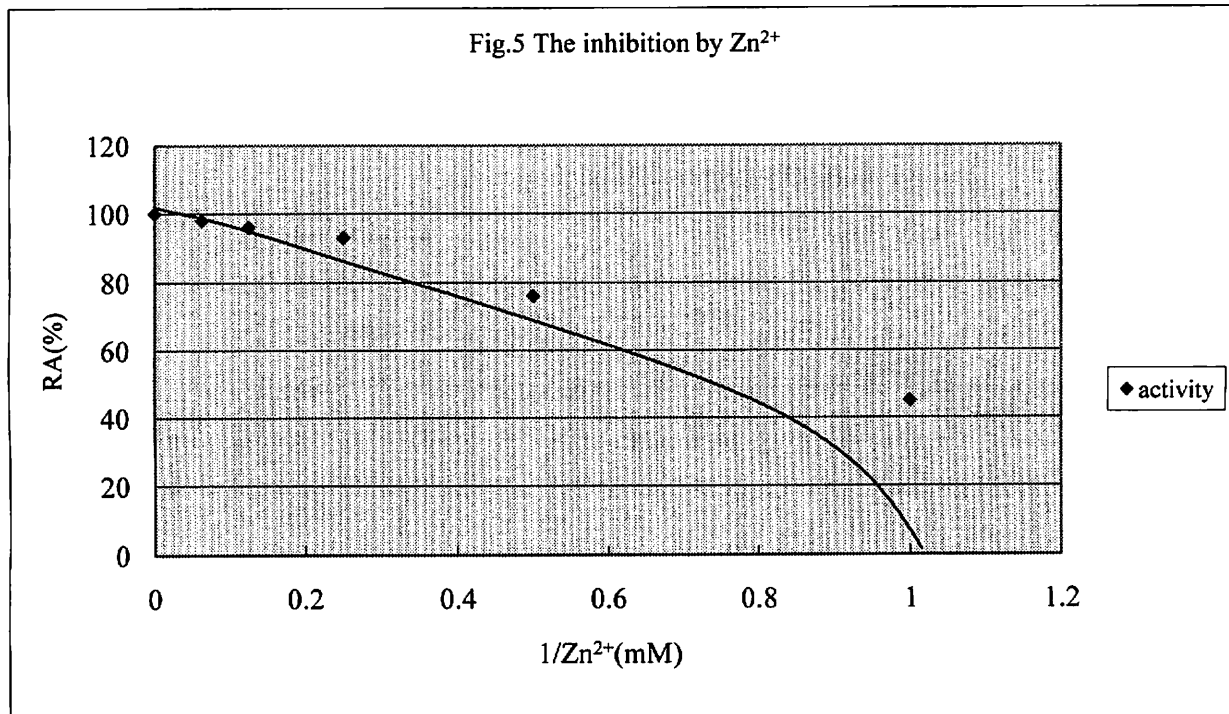
ii) 最適温度

部分精製した酵素液を用い、活性を 0℃,20℃,25℃,30℃, 35℃,40℃,45℃,50℃で測定すると、以下のような曲線が得られ、最適温度は 25℃~35℃であった。



iii) 亜鉛イオンによる阻害

亜鉛イオンの濃度変化実験において以下のようなグラフが得られ、1.0mmol/L で亜鉛イオンは Glycogen Phosphorylase b の活性を 50%阻害する。



また、下図より GIP は競争阻害で、
グリコーゲン非競争阻害、
AMP は非競争阻害である。

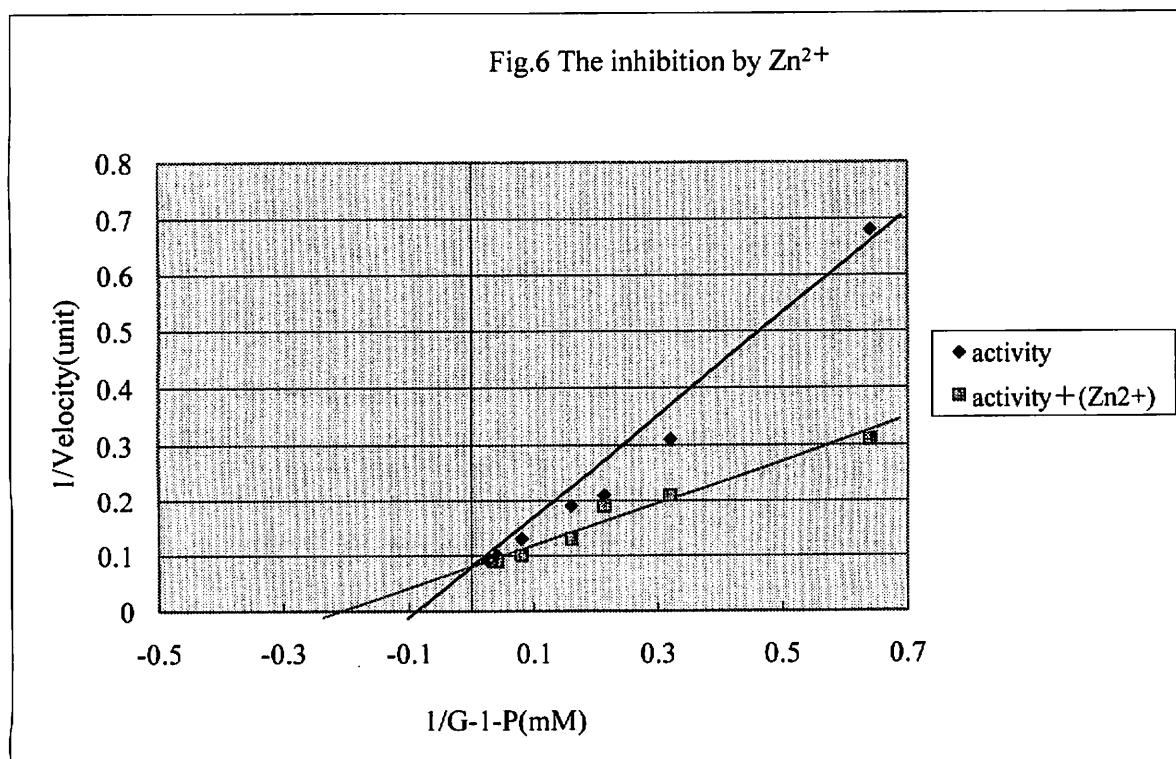


Fig.7 The inhibition Zn^{2+}

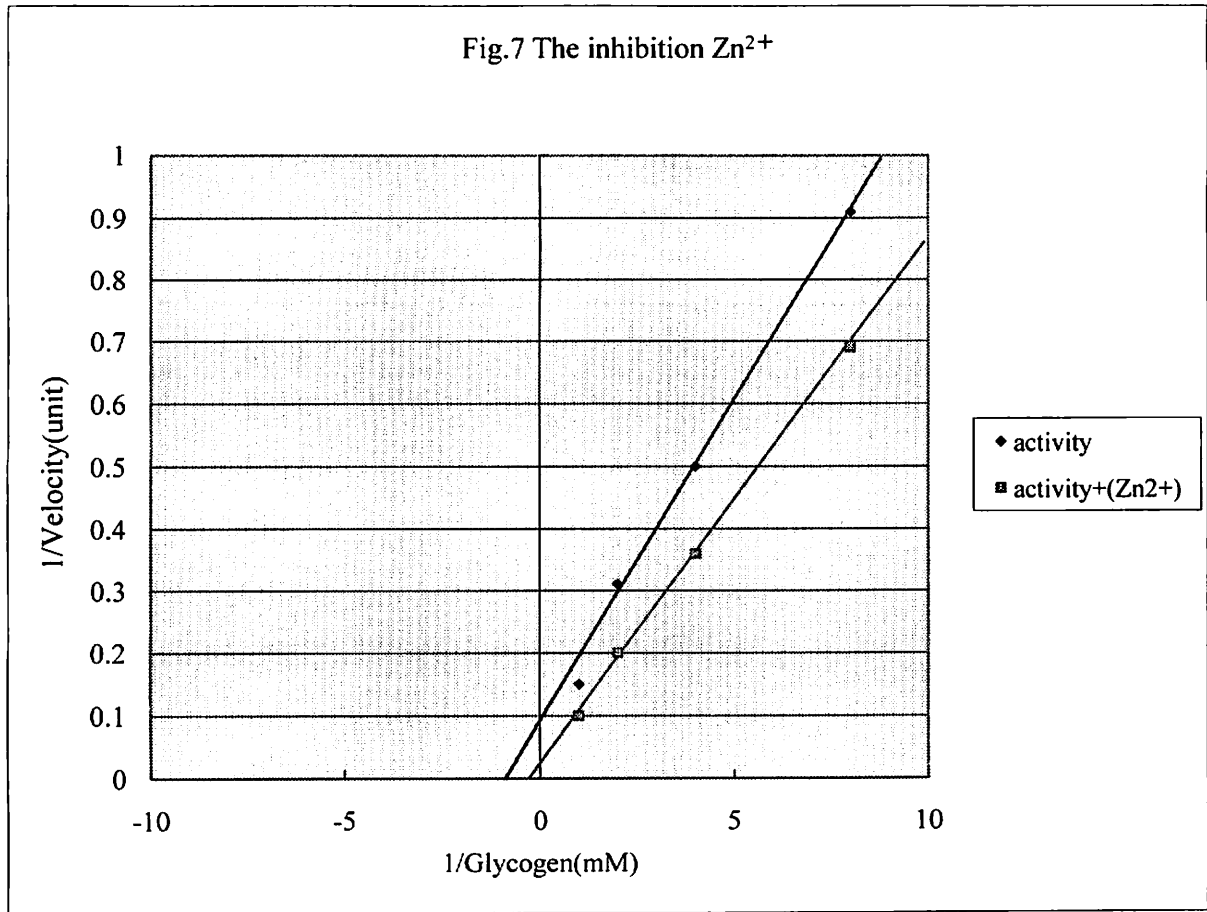
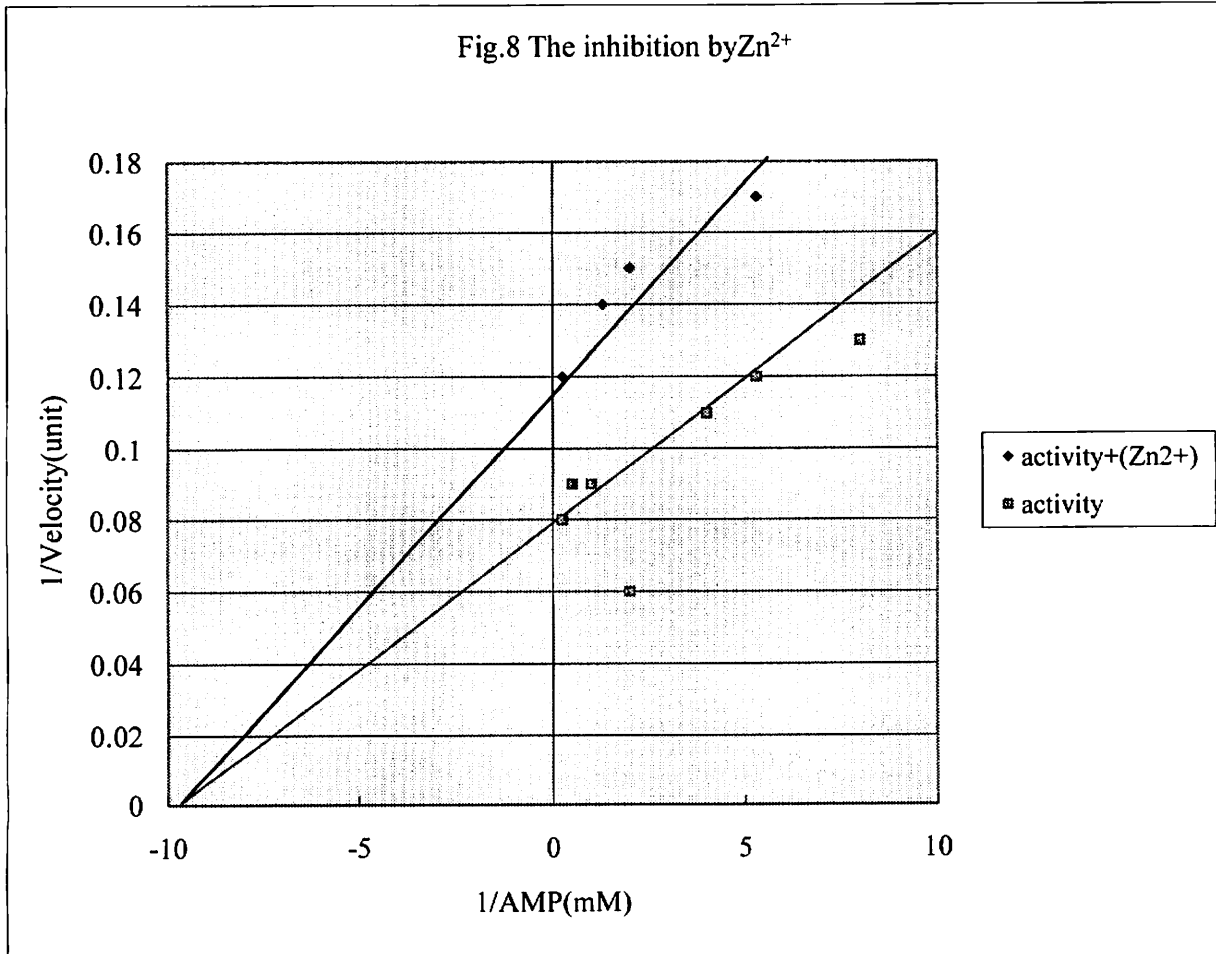


Fig.8 The inhibition by Zn^{2+}



EFFECTS OF METAL IONS ON THE ACTIVITY⁺

Ion ⁺	Concentration ⁺ (mM) ⁺	Relative ⁺ Activity ⁺ (%) ⁺
None ⁺		100 ⁺
Ag ⁺	1.0 ⁺	124 ⁺
Ca ²⁺	1.0 ⁺	103 ⁺
Mn ²⁺	1.0 ⁺	90 ⁺
Pb ²⁺	1.0 ⁺	100 ⁺
Mg ²⁺	1.0 ⁺	98 ⁺
Ni ²⁺	1.0 ⁺	31 ⁺
Cu ²⁺	1.0 ⁺	22 ⁺
Zn ²⁺	1.0 ⁺	50 ⁺
Co ²⁺	1.0 ⁺	66 ⁺
Al ³⁺	1.0 ⁺	90 ⁺
Fe ³⁺	1.0 ⁺	94 ⁺

考察

我々は、以下の項目まで注目点を広げて考察した

i) イオンの価数に関して

	1 価	2 価	3 価
促進	Ag ⁻	Ca ²⁺	
阻害		Mg ²⁺ , Mn ²⁺ , Co ²⁺ , Zn ²⁺ , Ni ²⁺ , Cu ²⁺	Fe ³⁺ , Al ³⁺ +
影響なし		Pb ²⁺	

2 価のイオンに関しては、思ったとおり阻害の傾向が見られたが、Ca²⁺は促進剤、Pb²⁺は影響となった。2 価のイオンにはカルシウムなど、体にとって重要であろう物が含まれるので、次に重金属か軽金属かを検討した。

ii) 重金属か軽金属かに関して

	重金属	軽金属
促進	Ag^+	Ca^{2+}
阻害	$\text{Mn}^{2+}, \text{Co}^{2+}, \text{Zn}^{2+}, \text{Ni}^{2+}, \text{Cu}^{2+}, \text{Fe}^{3+}$	$\text{Mg}^{2+}, \text{Al}^{3+}$
影響なし	Pb^{2+}	

以上より、関連性は認められないので、次に遷移金属か典型金属かを検討した。

iii) 遷移金属か典型金属かに関して

	遷移金属	典型金属
促進	Ag^+	Ca^{2+}
阻害	$\text{Mn}^{2+}, \text{Co}^{2+}, \text{Zn}^{2+}, \text{Ni}^{2+}, \text{Ca}^{2+}$	Mg^{2+}
影響なし		Pb^{2+}

以上より、関連性は認められないので、イオン化傾向を検討した。

iv) イオン化傾向に関して

弱		← イオン化傾向 →								
強										
A	Cu^{2+}	Mn^{2+}	Fe^{3+}	Pb^{2+}	Ni^{2+}	Co^{2+}	Zn^{2+}	Al^{3+}	Mg^{2+}	Ca^{2+}
g^+	+	2+	+	+	+	+	+	+	2+	
↑	↓	↓	↓	→	↓	↓	↓	↓	↓	↑

以上より、関連性は認められない。

i) ~ iv) より、規則的な法則は発見できなかった。各々のイオンの性質よる所が大きいと考える。

又、部分精製で得られた酵素液には Glycogen Phosphorylase b 以外の酵素が混ざっていたであろうが、その影響は、少ないと仮定して実験を行った。今後、完全に精製する必要がある。このように低濃度で亜鉛イオンが阻害することから、生体内で何らかの役割があると考えられるが、これ以上は本校の設備では追求できない。

参考文献

- 1) 高橋泰常: 生化学 26,690(1955)
- 2) 中村道徳, 蛋白質核酵素 22,1483(1977)

謝辞

今実験に際して、数多くの助言、教示を与えてくださった野口俊一先生、福野勝久先生にここで感謝の意を称します。

環境が再生能力にもたらす影響

幸寺 健悟 畑 翔太

1, 緒言

プラナリアは比較的水質がきれいで、光の当たらない場所に生息する生物で、再生能力に優れている。では、プラナリアを水質の汚い場所で再生させる実験をする場合、再生能力にどのような影響を与えるのか、という疑問を抱いた。

私たちが文献を調べた限りでは、切断したプラナリアを再生させる際に周辺の環境（気温、溶媒中の物質、光の有無（照度））を変化させた実験はなかった。今回私たちが行う実験は、プラナリアを再生させる際に周辺の環境をさまざまな条件に変化させ、再生能力が促進もしくは抑制されるかどうかを調べるものである。

*この論文中の文献とは、すべて「プラナリアの生物学-基礎と応用と実験」を指す。

本実験の大まかな流れを説明すると、

- ① 実験に適切な溶媒を決めるプラナリアの再生実験を行う
- ② 溶媒中の物質と光の有無の影響をみる再生実験を行う。
- ③ 光の強さと量を変化させた再生実験を行う。

というものである。

溶液を作る際の物質として、河川の汚染に関係のあるものや、プラナリアに栄養となるだろうと考えた物質を用いた。具体的には、浸透圧に関係あるだろう塩化ナトリウム、塩化カリウム、河川の汚染物質として塩化アンモニウム、リン酸二水素ナトリウム、リン酸二水素カリウム、栄養になりそうなものとして、グルコースを溶質として溶液を作った。（ここで選択した物質はあくまで推測であるので、実際にその物質が汚染に関係していることや栄養となることは確認できていない。）また、リン酸水素二ナトリウム、リン酸水素二カリウムは、これらの溶液にリトマス紙を用いて pH を測ったところ青変、つまり、塩基性であったことを確認した。また、実際の汚染を人工的に作ると、どの物質が反応しているか特定できないので、選択した物質ごとにプラナリアの再生実験を行った。

各物質の変化の差はプラナリアの目が再生したときを基準にして観察することにした。気温は、変化させると行わなければならない実験の種類がより多くなるので、15℃と設定した。また光の有無も同様に变化させるため、気温を一定に保ちながら、光を照射できる人工気象器を使用した。光の有無は、プラナリアがもつ負の光走性に何らかの影響を与えるのではと考えたためつけた条件である。また、プラナリアの分裂は夜に行われるという記述が文献にあったので、これも何か影響を及ぼすのではと考えた。そのため、光が当たらない場合のほうが光を当てた場合よりも再生速度が速く、光を当てた場合は逆に再生速度が遅くなるだろうと仮定した。

ここで、本実験でのプラナリアの「再生した」・「死んだ」の基準を定義する。「再生した」とは、プラナリア片の目が再生したことが顕微鏡で確認できるようになったときとした。実験の中でプラナリアが「死んだ」とは、プラナリア片が白くなって崩れていて、再生の見込みがなくなったときとした。（実際に、「死んだ」プラナリアは再生しない。）

もし、この実験で周辺の環境に応じてプラナリアの再生能力が変化することが分かれば、再生医療の分野で何か役に立つことが発見できるきっかけになるかもしれない。

2. 再生実験に適切な溶媒を決める実験

物質を何も入れていない蒸留水のみが入ったシャーレを用意し、そこにプラナリアを 4 等分したもののうち頭部を除いた 3 片を投入する。5 匹用いるので、合計 15 片投入する。そして照度計を用い 420～880 ルクス の位置を調べ、これらのシャーレを 420～880 ルクス、15℃ の下でその他の条件は変化させていない人工気象器に入れ一週間程度観察・実験を行った。同様に蒸留水の代わりに汲み置き水でも実験を行った。

○実験の結果

表 1 蒸留水の場合

蒸留水	投入直後	7 日目	11 日目
840～880 ルクス	15	2	2(再生)
420～450 ルクス	15	9	9(再生)
箱内(0 ルクス)	15	2	2(再生)

(再生)とはプラナリア片が目の再生を終えたときを表す。

表 2 汲み置き水

汲み置き水	投入直後	3 日目	6 日目	10 日目
840～880 ルクス	13	13	12(再生)	11
420～450 ルクス	15	15	15(再生)	15
箱内(0 ルクス)	12	12	12(再生)	11

○表からわかること

(蒸留水の場合) 7 日目には再生が確認できなかった。汲み置き水と比べると再生数はとても少ない。

(汲み置き水の場合) 実験開始時に 840～880 ルクスと箱内(0 ルクス)で実験開始時からプラナリア形の数が少ないのは切られたプラナリア片がもともと弱っていたために切られたショックですぐに死んでしまったものと考えており、(このことをこれ以後では“個体差による死亡”ということにする)、表のどのデータをとっても個体差による死亡を除けばほとんど完全に再生していることが分かる。

○考察

なぜ蒸留水と汲み置き水にこのような差が生じるのかは解明できなかったが、この実験を踏まえ、これからの実験では溶媒として汲み置き水を用いることにした。また、表 1, 2 で 840～880 ルクスと 420～450 ルクスを比較すると 840～880 ルクスの方が光による影響が大きいためこれからの実験で 840～880 ルクスを使用することにした。

3. 溶媒中の物質と光の有無の影響をみる実験

○実験概要

実験の流れを大まかに示すと、

- ① 選んだ溶質の水溶液(汲み置き水)を作り、それぞれをシャーレに注ぐ。
- ② プラナリアを切り、①のシャーレに入れる。
- ③ 作ったシャーレを光の有無に分け、15℃に設定した人工気象器に入れる。
- ④ プラナリアが再生するまで観察する。
- ⑤ 観察したことからわかることを考察する。となる。このあと①～④の作業について記す。

○ 使用した器具

- ・ NaCl (Katayama Chemical, 試薬一級, Test No-606171)
- ・ KCl (片山化学工業株式会社, 試薬 1 級, 24-4300)
- ・ NH₄Cl (キンダ化学株式会社, 試薬 1 級, M17907V)
- ・ Na₂HPO₄·12H₂O (Katayama Chemical, 試薬一級, Test No-721817 ほか)
- ・ K₂HPO₄ (Chameleon Analytical Reagent, 試薬一級, 45434T)
- ・ C₆H₁₂O₆ (Katayama Chemical, 試薬一級, Test No-790730)
- ・ 電子天秤 (サノタリウス株式会社, METTLER TOREDO)
- ・ 汲み置き水 (水道水を 1000mL ビーカーに入れアルミホイルをして一日放置したもの)
- ・ ビーカー 100mL, 200mL, 500mL, 1000mL (ASAHI TECNO GLASS IWAKI, TE-32)
- ・ 100mL メスシリンダー (ISOLAB BORO3-3)
- ・ 安全ピペッター (ARAM, 080921)
- ・ 滅菌シャーレ浅型 90×15mm (ASAHI TECNO GLASS, EOG 滅菌済, SH90-15)
- ・ プラナリア (実験室にあったものを使用した)
- ・ 筆
- ・ カミソリ
- ・ 炉紙 (QUALITATIVE ADVANTEC, FILTER PAPER)
- ・ CLEAN BENCH (KENIS Kagaku Kyoeshisha Ltd.)
- ・ PALAFILM“M” (LABORATORY FILM, IL60631)
 - ・ アルミホイル (コーナン商事株式会社)
 - ・ 人工気象器 (My system) 1つのスイッチにつき 4本の蛍光灯が点くようになっており、全部で 4つのスイッチがある。
- ・ デジタル照度計 YF (YU FIING, YF-1065)
- ・ 三眼実態顕微鏡 (Maris)

○ 手順

① 溶液・シャーレの作り方

Na₂HPO₄·12H₂O, C₆H₁₂O₆, K₂HPO₄, NaCl, KCl, NH₄Cl を電子天秤でそれぞれ 1.0g 測りとり、100mL ビーカーで汲み置き水に溶かして 100mL にする。次に安全ピペッターで先に作った各々の溶液について 1.0mL ずつ取りそれぞれ 100mL ビーカーに入れる。そして、メスシリンダーで測り取った蒸留水 99mL を入れて先の溶液を希釈して、ガラス棒でかき混ぜる。この操作を各々の物質について後 2 回繰り返して、1.0×10⁻²%, 1.0×10⁻⁴%, 1.0×10⁻⁶% 溶液を作る。最後にこれらの溶液 1 種類につきガラス棒をつたわせて 2 つのシャーレに入れる。(全部で 12 つできる。) また、1.0% 溶液や残っている溶液やその時に使用しなかった溶液は PALAFILM“M”を用いて室温で保存した。

② プラナリアの切り方・投入

プラナリアを切断する際、プラナリアの動きを固定するために一般に氷の上で切断する。ここでは蓋シャーレに汲み置き水を入れて、冷凍庫で凍らせて大きく平らな氷を作った。その氷の上に汲み置き水で湿らせた炉紙を置き、次に実験室にあるプラナリアを筆でとってその上に置く。(実験に使用するプラナリアは実験前 1 週間程度餌を与えないようにする。) 剃刀でプラナリアに対し垂直になるようにプラナリアをおよそ 4 等分に切断する。(切断に失敗したものは使用しないようにする。)

4 等分にされたものから目を含むプラナリア片は実験室のプラナリアが入っているビーカーに戻し、目を含む部位以外のプラナリア片を 5 匹 15 片ずつ、①で作ったシャーレに入れる。(目を含む部位はビーカーに入れるとほかのプラナリア達に食べられてしまうので、適当なサイズのビーカーに入れて再生させるのも良いかもしれない。)ただし、グルコースのシャーレにプラナリアを入れる場合は、周囲の菌が入らないようにするためにクリーンベンチを使用して、切断・投入の作業を行う。

③人工気象器への投入

人工気象器内 15℃の下、6 時から 18 時までの 12 時間のみ 840~880 ルクスが照射されている状態に設定する。②で作った各物質の各濃度の 2 つのシャーレのうち 1 つはそのまま人工気象器に投入する。もう 1 つのシャーレは箱に入れてアルミホイルを上からかぶせ、箱のふたをガムテープで開かないようにして光が極力入らないようにしたものを人工気象器の最下層に入れる。この状態で 1 週間程度観察を続ける。観察するときのみ取り出す。

④観察方法

プラナリア片は生きている場合、元の色を失うことはないので、おもに肉眼で再生中か死んでいるかは確認できる。観察開始から 5~7 日が最も目が再生しだしている時期なので、その期間のみ顕微鏡を用いて観察する。もちろん再生中か死んでいるかがあいまいな場合も顕微鏡で観察した。

○結果

各々のシャーレについて結果を下の表にまとめた。

*表の見方

表中の数字は、生きているプラナリア片の数を表す。表中の(再生)とはその時点で全てのプラナリアが再生している場合で、(一部再生)とは半分程度再生しているが、残りの個体は再生しているか判然としない場合を示す。n/m (再生)とは n 匹が生きている m 匹中ですでに再生していることを示す。(但し n, m はじめのプラナリア片の数を越えない自然数)

表 3 NaCl の場合

	NaCl	投入直後	2 日目	7 日目	7 日目
光あり	$1.0 \times 10^{-2}\%$	15	15	7/15(再生)	15(再生)
	$1.0 \times 10^{-4}\%$	14	14	14(再生)	
	$1.0 \times 10^{-6}\%$	15	15	9/15(再生)	15(再生)
光なし	$1.0 \times 10^{-2}\%$	15	15	15(再生)	
	$1.0 \times 10^{-4}\%$	11	11	11(再生)	
	$1.0 \times 10^{-6}\%$	15	15	15(再生)	

表 4 KCl の場合

	KCl	投入直後	2 日目	6 日目
光あり	$1.0 \times 10^{-2}\%$	15	15	15(再生)
	$1.0 \times 10^{-4}\%$	15	15	15(再生)
	$1.0 \times 10^{-6}\%$	15	15	15(再生)
光なし	$1.0 \times 10^{-2}\%$	15	15	15(再生)
	$1.0 \times 10^{-4}\%$	15	15	15(再生)
	$1.0 \times 10^{-6}\%$	15	15	15(再生)

表 5 NH₄Cl の場合

	NH ₄ Cl	投入直後	1 日目	3 日目	7 日目	8 日目
光あり	1.0×10 ⁻² %	13	11	10	7	6(再生)
	1.0×10 ⁻⁴ %	6	6	6	6(再生)	6
	1.0×10 ⁻⁶ %	5	5	5	5(再生)	5
光なし	1.0×10 ⁻² %	14	14	14	13(一部再生)	13
	1.0×10 ⁻⁴ %	15	15	15	15(再生)	15
	1.0×10 ⁻⁶ %	15	14	14	14(再生)	14

表 6 K₂HPO₄ の場合

	Na ₂ HPO ₄	投入直後	1 日目	3 日目	7 日目
光あり	1.0×10 ⁻² %	15	15	15	15(再生)
	1.0×10 ⁻⁴ %	15	15	15	15(再生)
	1.0×10 ⁻⁶ %	13	12	12	11(再生)
光なし	1.0×10 ⁻² %	10	10	10	10(一部再生)
	1.0×10 ⁻⁴ %	15	15	15	15(再生)
	1.0×10 ⁻⁶ %	15	15	15	15(再生)

表 7 K₂HPO₄ の場合

	K ₂ HPO ₄	投入直後	2 日目	6 日目	7 日目
光あり	1.0×10 ⁻² %	15	15	15(再生)	
	1.0×10 ⁻⁴ %	15	15	15(再生)	
	1.0×10 ⁻⁶ %	13	12	12(再生)	
光なし	1.0×10 ⁻² %	15	15	15	15(一部再生)
	1.0×10 ⁻⁴ %	15	14	14	14(一部再生)
	1.0×10 ⁻⁶ %	15	14	14	14(一部再生)

表 8 C₆H₁₂O₆ の場合

	C ₆ H ₁₂ O ₆	投入直後	2 日目	6 日目	7 日目
光あり	1.0×10 ⁻² %	15	11	7/11(再生)	11(再生)
	1.0×10 ⁻⁴ %	15	15	11/15(再生)	15(再生)
	1.0×10 ⁻⁶ %	15	15	15(再生)	
光なし	1.0×10 ⁻² %	14	14	14(再生)	
	1.0×10 ⁻⁴ %	12	12	12(再生)	
	1.0×10 ⁻⁶ %	15	15	15(ほぼ再生)	15(再生)

○表からわかること

結果をまとめた表から、同じ濃度での光の有無による差がみられなかったり、投入直後に個体差(切断前のプラナリアの状態)による死亡があったり、溶液の濃度による再生数の差が全く分からなかったりと私たちの予想していたものとずいぶん異なってしまった結果になった。また、実験回

数が限られていたためこの一回のみの結果で議論することを余儀なくされた。そのため、この実験の結果がまた同じように得られるという自信はない。

○考察

この実験は私たちが選んだ物質やその濃度によるプラナリアへの影響が確認できるものではないと考えた。原因として、実験回数や比較できるプラナリア片の数が少なかったこと、私たち自身の観察の内容や回数が不足であったこと、再生実験中は 12 時間照射であり、光の当たる条件でも光の当たらない状況があったため再生しやすいかもしれないこと、人工気象器内の照度が光の有無の影響が見られる適当なものであったかなどが挙げられる。そのため、今後の実験においては可能な限り毎日観察することを念頭に置き、得られるデータに確実性を持たせる為に私たちが設定する 1 つの条件でシャーレ 2 つ、つまり、プラナリア 30 片を使用することでより正確なデータを集めることにした。また、溶媒中の物質による影響は私たちが選択する物質に依存するので、これについては今後、実験しないことに決めた。今後は、今までの実験でプラナリアの再生に影響を与えているとわかった“光による影響”のみを調べることにした。

4. 光の照度による影響をみる実験

●実験①

○実験①概要

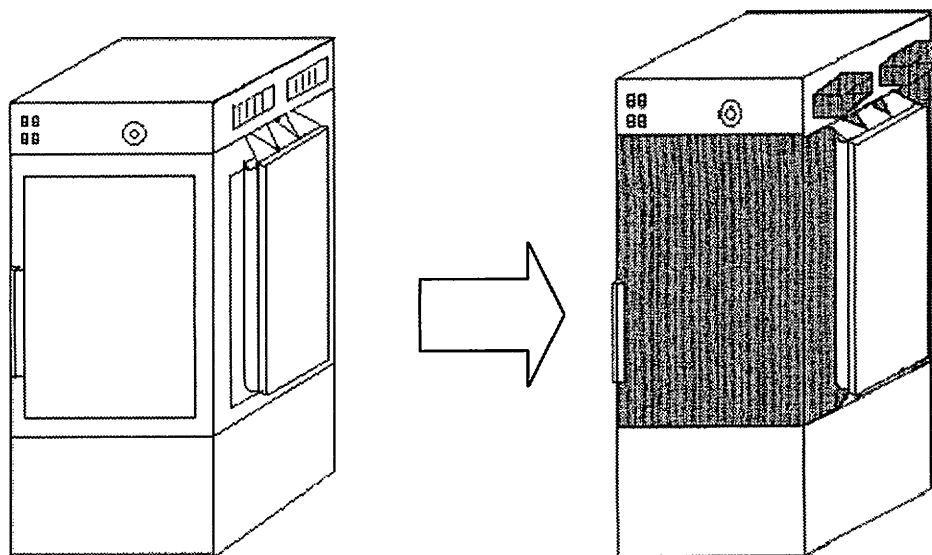
実験の流れを大まかに示すと

- ①汲み置き水入りのシャーレをつくる。
- ②プラナリアを切り、シャーレに投入する。
- ③15℃の下、人工気象器内で調べたい照度を設定する。
- ④プラナリア片が再生するまでの約一週間、顕微鏡を用いながら観察する。
- ⑤観察したことからわかることを考察する。 となる。このあと、①～④の作業について記す。

○使用した器具

- ・汲み置き水 (水道水を 1000mL ビーカーに入れアルミホイルをして一日放置したもの)
- ・滅菌シャーレ浅型 90×15mm (ASAHI TECNO GLASS,EOG 滅菌済,SH90-15)
- ・プラナリア (実験室にあったものを使用した)
- ・筆
- ・カミソリ
- ・炉紙 (QUALITATIVE ADVANTEC,FILTER PAPER)
- ・PALAFILM“M” (LABORATORY FILM,IL60631)
 - ・アルミホイル (コーナン商事株式会社)
- ・人工気象器 (My system) (1 つのスイッチにつき 4 本の蛍光灯が点くようになっており、全部で 4 つのスイッチがある。)
 - ・デジタル照度計 YF (YU FIING,YF-1065)
 - ・三眼実態顕微鏡 (Maris)

*また、ここで用いる人工気象器は正確に照度を安定させるために人工気象器内への外界の光を遮断した。そのため、図 (1) のように、光の侵入するガラス面をすべて黒画用紙で覆った。



元の人工気象器

図 (1)

人工気象器の周りの窓に黒画用紙を貼りつけて光が入らないようにして、人工気象器上部にある空気の換気を行う 4 ヶ所の穴には四角形を底面とする筒状のものを貼りつけ光を出るだけ入らないようにした。但し、人工気象器上部の窓には蛍光灯の光を照射させるために黒画用紙は貼りつけなかった。

○ 手順

① 汲み置き水をシャーレに入れる。

② 前の実験と同様にプラナリアを切る。ここでは設定するそれぞれの照度（下記のとおり）に対し、2つのシャーレ（1つのシャーレにつきプラナリア 15 片）を作る。

③ 人工気象器内で照度計を使用しながら、照度 3000,2000,1500,1300,1000,0 ルクスとなる場所を探した。この際、蛍光灯の本数を調節したり、蛍光灯からの距離を遠ざけたり、観察するシャーレの上に空のシャーレを置いたりして使用したい値を設定した。使用した蛍光灯は主に上部の4本で、側面の蛍光灯は外してある。また、プラナリアの再生が起こりやすいと考えられる光の当たらない状態を一切なくすため、人工気象器内で 15℃の下、24 時間照射した。（前の実験は 12 時間照射であり、光の当たる条件でも光の当たらない状況を作ってしまったため。）

④ プラナリア片は生きている場合、元の色を失うことはないので、おもに肉眼で再生中か死んでいるかは確認できる。観察開始から 5~7 日が最も目が再生しだしている時期なので、その期間のみ顕微鏡を用いて観察する。もちろん再生中か死んでいるかがあいまいな場合も顕微鏡で観察した。

○実験①結果

各々の照度のシャーレの結果を表にまとめた。尚、0 ルクスは光が入らないように工夫した箱を使用した。

*表の見方

左端の数はルクスの程度を表し、表中の数は再生中（生きている）のプラナリアの数を表す。？のマークは観察できなかったことを表す。1500ルクスで、並んでいる表中の数は左から1回目、2回目の実験を表す。7日目の観察時にはどのルクスのプラナリアも目が再生していることが確認できた。

	1日目	2日目	3日目	4日目	5日目	6日目	7日目
3000	29	26	21	?	?	?	0
2000	30	29	29	?	?	?	8
1500	27,30	27,30	27,30	?,30	?,21	?,?	11,10
1300	30	30	30	30	29	?	19
1000	30	30	30	30	30	?	26
0	30	30	30	30	30	30	30

○表からわかること

再生数はルクスの値が小さいほど多い。5,6日目に再生中のプラナリアが急激に死んでいることが分かった。（ただし、3000,2000ルクスのシャーレは4~6日目の観察ができなかったため、この2つのルクスについてはどこでどのように死んでいるかは断定できない。）

○実験①考察

何故、5,6日目に多くのプラナリアが死んだのか。文献によると、「再生4~5日目に視細胞先端部が存在する」とある。つまり、ちょうどそのころには光を感じることが出来ているということである。（私たちはそのように解釈した。）そこで私たちはふたつの仮説を立てた。

仮説① プラナリア片は再生してから強い光を感じ取ることで死ぬのではないか。

仮説② プラナリア片は再生の初期からの光のダメージが蓄積されて死ぬのではないか。（ここでいうダメージとは、プラナリアがどのように光を受け取るかというメカニズムはわからないが、人間でいうストレスのようなものであると想像した。）

また、すでに目を持ち、光を感じ取ることの出来るプラナリアは、この場合どのような影響を受けるのか。これを調べる為に実験①に新たな条件を加えて実験②を行なった。

●実験②

実験①の手順①~③に基づいて、照度を1300ルクスに固定し、追加する条件を以下のA~Dようにして実験、観察した。

- A 観察5日目まで1300ルクスで再生させて、箱（0ルクス）に移す。
- B 観察5日目まで箱で再生させ、1300ルクスに移す。
- C 観察中ずっと1300ルクスで再生させる。
- D 切っていないプラナリア6匹を1300ルクスで保管する。

○実験②結果

表 10 実験②結果

	1 日目	2 日目	3 日目	4 日目	5 日目	6 日目	7 日目
A	24	24	24	24	24	24	24
B	30	30	30	30	30	30	30
C	30	30	30	30	30	?	20
D	6	6	6	6	6	?	1

○表からわかること

入れ替えた A, B はどちらも光による影響がみられない。5 の実験と同じ C は 5 の実験と同様の結果になった。D は 6 日目に急に死んでいる。このことから、目の再生に関係なく、観察中の光の照射のダメージにより再生数が急激に変化したと考えられる。おそらく、プラナリアは光を一定量浴びると死んでしまうということになるだろう。

*追加観察

実験②の 17 日目に再生したプラナリアを観察してみると、A (観察 5 日目まで 1300 ルクスで再生させて、箱 (0 ルクス) に移したもの) と B (観察 5 日目まで箱で再生させ、1300 ルクスに移したもの) に変化があった。

表 11 追加観察結果

	7 日目	17 日目
A (5 日目以降箱)	24	24
B (5 日目以降 1300 ルクス)	30	10

この事実からも、やはり、光を受けることによるダメージが実験②のプラナリアの死因と考えられる。

○実験②考察

実験①, 実験②, 追加観察から、この再生実験のプラナリア片への光の影響は、プラナリア片の再生への影響ではなく、もとのプラナリアへの影響が大きいことがわかった。私たちの二つの仮説はどちらも正しくなかった。ただし、これは 24 時間照射の場合のときでないとしか言えない。では 12 時間照射であるとどうなるのだろうか。ここで私たちは、「12 時間照射の場合、24 時間照射 6 日目までに光から受けるダメージの総量に達しないため、6 日目での急激な減少は起こらない」という仮説を立てた。

●実験③

実験②の手順に基づく。変化させるのは、人工気象器の 1300 ルクスでの照射時間を 24 時間から 12 時間にすることである。(5 時から 17 時にしたが、ここでの実験は連続して 12 時間照射できる設定でよい。) *実験前、使用するプラナリアを保管するビーカーの水質が悪かったため、プラナリアが弱っていたかもしれない。しかし、使用できるプラナリアに限られており、それを利用するほかなかった。

- A 観察 5 日目まで 1300 ルクスで再生させて、箱 (0 ルクス) に移す。
- B 観察 5 日目まで箱で再生させ、1300 ルクスに移す。
- C 観察中ずっと 1300 ルクスで再生させる。

D 切っていないプラナリア 6 匹を 1300 ルクスで保管する。

○実験③結果

	1 日目	2 日目	3 日目	4 日目	5 日目	6 日目	7 日目
A	30	?	?	30	29	27	27
B	30	?	?	26	24	24	24
C	30	?	?	19	19	19	19
D	6	?	?	6	6	6	5

比較しやすくするために、実験②の結果も下に載せておく。

	1 日目	2 日目	3 日目	4 日目	5 日目	6 日目	7 日目
A	24	24	24	24	24	24	24
B	30	30	30	30	30	30	30
C	30	30	30	30	30	?	20
D	6	6	6	6	6	?	1

○実験③考察

表を見る限り、私たちの仮説に反し、A、B は実験③は実験②に比べてプラナリアの再生数が減っている。さらに、C については、観察 2～3 日目の間に 10 匹ほど死んでいたので、6 日目に急激な減少が起こるかどうかを判断することすらできなかった。しかし、D については 6 日目の急激な減少が起こっていないため、実験③の結果は一概に 12 時間照射による影響が確認できるものであったとは言い難い。この原因は、先に述べたように、実験前のプラナリアの状態が悪かったためと考えた。

光の当たっている時間数が実験②の急激な減少がおこる 6 日目と同量になる 12 日目の観察ができなかったのは残念だった。

5, 結論

今までの実験から分かったプラナリアの再生実験を行う環境として好ましいのは、『1000 ルクス以下で汲み置き水を使用すること』である。また私たちが選択した物質と設定した濃度では、プラナリアの再生に対し何らかの影響を与えたとは考えにくい。また、光は再生に対して大きな影響を与えると考えていたが、『光の強い環境では再生途中かどうかに関係なくプラナリアはダメージを受ける』ということが分かったので、当初の目的の「再生への影響」を見られなかった。光によってプラナリアが死ぬ原因として紫外線の殺菌効果によるものではないかと考えたが、シャーレの蓋がシャーレ内への紫外線の侵入をいくらか妨げているという話を聞いたので紫外線の影響ではないだろうと考えている。実験②の考察の仮説は今回の実験では実証できなかったが、『光から受けるダメージの総量が（ルクスの大きさ、連続照射時間による）致死量を超えるとプラナリアは死んでしまう』ということは実験①の結果（3000 ルクスの 3 日目までの死に方など）からもほのめかされている。もし、実験①と実験①の 12 時間照射を行えば分かるかもしれない。当初の目的は周辺の環境による再生への影響を調べることであったが、その実験の過程で疑問になった「光がどのようにプラ

ナリアの再生に影響を与えているか」ということを調べたところ、結果的に「光はプラナリアの再生に関係なく影響を与える」ことを実証する実験になってしまった。反省するところは、このような流れになる前に、切断していないそのままのプラナリアが光に対してどのような反応を示すかを調べるべきだったことである。また、今回は1年間の短い期間で前例のない実験であったため、問題がたくさんあり対処するうちに時間がなくなっていったが、それでもここまでわかったことはよかったと思う。

14, 参考文献 手代木 渉/プラナリアの生物学-基礎と応用と実験-/共立出版株式会社

15, 謝辞

佃先生

安井先生

長野先生

高木先生 先生方のおかげで先例のない実験をスムーズに行うことができました。実験を手伝っていただき大変ありがとうございました。

食品実験

高木 将幹

1. 緒言

サイエンス探求で行った食品を用いた二つの実験について研究成果を報告する。

缶詰ミカン

缶詰ミカンの製法には塩酸と水酸化ナトリウム水溶液を使うものがあると聞いたことがあるため調べてみた。ミカンの房に分かれた部分の白い皮はペクチンという物質でできており、塩基で溶かすことができる。塩酸はミカンの皮の膨張と水酸化ナトリウム水溶液の中和のために使われる。缶詰ミカンの皮を塩酸と水酸化ナトリウム水溶液で溶かす方法があるということは調べてわかったが、どのくらいの濃度の塩酸と水酸化ナトリウム水溶液を使えばよいかということについての記述はなかった。缶詰ミカンを使った研究については、完成した缶詰ミカンの腐敗速度をさまざまな条件下で測定するものが主であり、ミカンの皮を薬品で溶かす実験の研究報告の例は見つからなかった。そこで実験により、ミカンの実を溶かさずに皮だけを溶かすのに適する塩酸と水酸化ナトリウム水溶液の濃度を研究した。この実験で缶詰ミカンに薬品が使われていることについての危険性などを調べることが期待できる。

自作無果汁オレンジジュース(以下自作ジュースと略す)と糖

市販の無果汁オレンジジュースはどのようにミカンの味を出しているかに興味を持ち、実験室でミカンを全く使わずに自作ジュースを作る実験を行った。また、その実験に使った糖の甘味についても調べた。この実験で自作ジュースに含まれる糖分の量を測定でき、糖の過剰摂取を警告できる。

2. 実験手順(缶詰ミカン)

ウンシュウミカンなどの柑橘類の外側の厚い皮を剥き、中身を一房ごとに分ける。濃塩酸(一級塩化水素 35 %含有 キンダ化学株式会社)を希釈して 0.2 , 0.6 mol/L の希塩酸を調製する。また水酸化ナトリウム(特級 含量 97 % キンダ化学株式会社)を水に溶かし、0.1 , 0.3 , 0.6 mol/L の水溶液を調製する。希塩酸を約 50 °C に熱し、房に分けたミカンを約 15 分間浸した後で取り出し、水洗いする。次に水酸化ナトリウム水溶液を約 50 °C に熱し、約 5 分間浸した後ミカンを取り出し、水洗いする。水洗いしたミカンを観察し、ミカンの pH を pH 試験紙で測定する。pH が 6 から 8 の間なら薬害の影響は少ないと判断し、完成したミカンを食べてもよいとする。

※実験上の注意

ミカン塩酸や水酸化ナトリウム水溶液に浸すときには、塩酸用と水酸化ナトリウム水溶液用の 500 ml のビーカーを二つ用意し、そのビーカーはこの実験以外に使用しない。

ミカン水洗いするとき、ミカンが崩れないように注意する。

完成したミカンの pH が 6 から 8 の間でも薬品による害がないとは言いきれないので、ミカンを食べるときは自己責任で食べる。他人に食べさせるときは必ずミカンに危険性があることを説明して、本人の承諾を得る。

完成したミカンを食べる方針で実験を進める場合、使用する器具は清潔なものを使い、実験後に器具の水滴を拭き取る際には、清潔な布を使用する。

3. 実験結果(缶詰ミカン)

塩酸と水酸化ナトリウム水溶液の濃度をさまざまに変えて実験し、実験後のミカンの様子と pH を次の表 1 にまとめる。×印は実験または測定していない。

塩酸と水酸化ナトリウム水溶液の濃度がそれぞれ 0.6 mol/L のときは水洗いした時点で実が崩れた。塩酸と水酸化ナトリウム水溶液の濃度がそれぞれ 0.2 mol/L, 0.1 mol/L のときにミカンの皮だけをうまく溶かせる。また、塩酸のみ、または水酸化ナトリウム水溶液のみしか使わなかった場合は、皮が溶ける前にミカンの実が崩れることがわかった。pH については、ミカンのももとの pH は 6 で、塩酸、水酸化ナトリウム水溶液の順に浸した実験では、ミカンを水洗いしても pH は中性から塩基性で、酸性にはならないということがわかった。

		水酸化ナトリウム水溶液の濃度 (mol/L)			
		0(熱湯)	0.1	0.3	0.6
塩酸の濃度 (mol/L)	0(熱湯)	変化なし。 pH6	×	皮が溶けきらずに実が崩れる。pH10	×
	0.2	×	皮だけ溶ける。pH7	×	×
	0.6	皮も実もぼろぼろになる。pH3	×	実が少し崩れたが、皮は溶けきる。pH8	皮は溶けきるが実が完全に崩れる。×

表 1 実験処理後のミカンの様子と pH(×印は未測定)

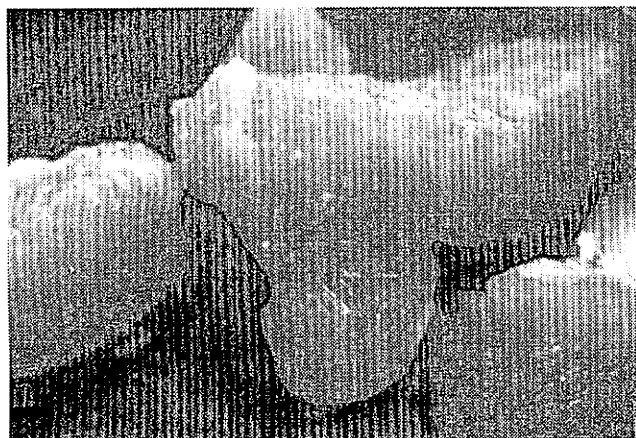


図 1 実験処理後のミカンの写真
(塩酸 0.2 mol/L, 水酸化ナトリウム水溶液 0.1 mol/L)

4. 考察(缶詰ミカン)

仮に塩酸と水酸化ナトリウム水溶液の濃度を 0.6 mol/L よりも大きくして実験を行った場合、ミカンは皮だけでなく実まで薬品に溶けると推測される。塩酸と水酸化ナトリウム水溶液を常温で使用した場合は皮を溶かすのに必要な時間が多くなると思われる。また、濃度を 0.1 mol/L よりも小さくした場合も皮を溶かすのに必要な時間が多くなると思われる。この実験でミカンの皮だけを溶かすには、塩酸と水酸化ナトリウム水溶液の濃度はそれぞれ 0.2 mol/L, 0.1 mol/L 以下でないといけないことがわかった。缶詰ミカンの危険性については 0.2mol/L 程度の塩酸と水酸化ナトリウム水溶液に順につけることでほぼ中和でき、水洗いが十分であれば pH による影響はないと言えるが、万一中

和や水洗いが不十分であれば缶や人体にとって有害となる可能性がある。

5. 実験手順(自作ジュースと糖)

自作ジュース製作

スクロース(一級 キシダ化学株式会社), D(+)-グルコース(一級 三栄化工株式会社), D(-)-フルクトース(特級 キシダ化学株式会社), スクロースとグルコースを同質量混合した糖, スクロースとフルクトースを同質量混合した糖, グルコースとフルクトースを同質量混合した糖, スクロースとグルコースとフルクトースを同質量混合した糖の 7 種類 3 g それぞれに 0.05 g の無水クエン酸(特級 キシダ化学株式会社)と 0.1 g の L(+)-アスコルビン酸(特級 キシダ化学株式会社)を加え, 食用黄色 4 号(紅不二化学工業株式会社)と食用赤色 102 号(紅不二化学工業株式会社)をごく微量加える。それに水を加え約 35 g にし, オレンジエッセンス(朝岡スパイス株式会社 IA)を少量加えたものを自作ジュースの完成品とし, 味見をしてその味の特徴や感想などをまとめる。

糖の甘味を調べる実験

自作ジュース製作に使った 7 種類の糖 3 g それぞれに水を加えながら味見を繰り返し, 甘味の感じ方の変化を甘味が感じなくなるまで調べ, そのときの糖液の質量%濃度を求める。また糖の種類による甘味の感じ方の違いや, 甘味の特徴, 味見をした感想についてもまとめる。

※実験上の注意

味見をしてもなるべく危険が出ないように使う薬品はこの実験専用とし, 他の実験には使用しない。また, オレンジジュースの材料の混合に使う器具は清潔なものを使用し, この実験以外では使用しない。また実験後に器具の水滴を拭き取る際には, 清潔な布を使用する。

完成したオレンジジュースや糖液に薬害がないとはいいきれないので味見をするときは自己責任で行う。他人に味見させるときは必ずオレンジジュースや糖液の危険性について説明して, 本人の承諾を得る。

味見による測定なので測定結果はあくまで個人の感想となる。そこでなるべく多人数に味見をしてもらい測定する方が好ましい。

6. 実験結果(自作ジュースと糖) (味見による測定なので測定結果はあくまで個人の感想となる。本実験では私一人が測定した。)

自作ジュースの味見の結果を表 2 に示す。自作ジュースの実験では, フルクトースと別の糖を混合しないと果汁のような甘味が出ないことがわかった。また, フルクトースと別の糖を混合することで急に甘味が強くなるように感じられた。上記の実験手順と同じ分量で自作ジュースを作ると, 500 ml 中に 48 g の糖が含まれている。

表 2 実験で作った自作ジュースの甘みの強さと感想

糖の種類	甘味の強さ	同じ甘味の強さの食材など	感想
スクロース	普通	サトウキビなど	甘い味しかしない。
グルコース	弱い	米など	甘味以外の味も少しある。
フルクトース	強め	蜂蜜など	甘味がきつい。
スクロース グルコース	弱め	和菓子の生地など	甘味で他の味が目立たない。
スクロース フルクトース	強い	市販の砂糖菓子など	甘味が他の味を消している。
グルコース フルクトース	強め	清涼飲料水など	十分な甘味だがきつくはない。
スクロース グルコース フルクトース	強すぎる	市販のフルーツキャンディなど	そのままでは飲めないほど甘い。

糖液の濃度と甘味の感じ方について調べたものを表 3 に示す。この表の比較から、糖の単独での甘味の強さは、フルクトースが一番強く、スクロース、グルコースと続くことがわかる。

表 3 糖液の濃度と甘味の感じ方

糖の種類	糖液の質量%濃度				
	5 %	2.5 %	1.7 %	1.4 %	1.3 %
スクロース	○	○	△	×	×
グルコース	○	×	×	×	×
フルクトース	○	○	△	△	×
スクロース グルコース	斜線	斜線	斜線	斜線	斜線
スクロース フルクトース	○	○	△	△	×
グルコース フルクトース	○	○	△	×	×
スクロース グルコース フルクトース	斜線	斜線	斜線	斜線	斜線

- 甘味をはっきり感じる
- △ 甘味をわずかに感じる
- × 甘味を感じない
- 斜線 未測定

7. 考察(自作ジュースと糖)

自作ジュースを作るにあたっては、糖はグルコースとフルクトース混糖がよいと思われる。なぜなら味見をした糖液の中で十分な甘味の強さでかつ甘味がきつすぎないからである。また、この実験では着色料として食用黄色 4 号と食用赤色 102 号を使ったが、できればミカンに含まれるカロテンという色素を使うことが好ましい。この実験で作った自作ジュースには 500 ml 中に 48 g の糖が含まれるが、市販の無果汁オレンジジュースには 500 ml 中に糖が 60 g 以上含まれるものもある。それにも関わらず実験で作った自作ジュースの方が甘く感じたので、市販品はうまく酸味料や香料を使って甘味をおさえていると考えられる。

糖の甘味についてはスクロースの甘味の強さを 1 とするとグルコースの甘味の強さは 0.5、フルクトースの甘味の強さは 1.5 ぐらいとなる。スクロースとグルコースの混糖、スクロース、グルコース、フルクトースの混糖については測定していないが、前者はスクロース、後者はフルクトースの甘味の強さと同じぐらいであろうと推測される。

8. 結論

缶詰ミカンは、ミカンの皮を溶かすのに使われる薬品は危険性がないとは言いきれないが、調べたところミカンの皮を溶かすのに薬品を使う製法は最近ではあまり使われずに高温の水蒸気で皮をふやけさせて剥がすといった方法が使われているので、現在の市販の缶詰ミカンに危険はないと言っていいだろう。

自作ジュースと糖については、実験で作った自作ジュースの方が甘く感じたにも関わらず市販の無果汁オレンジジュースの方が含まれている糖の量が多かった。これは市販の無果汁オレンジジュースが甘味をおさえた味付けをしているからで、そのほうが飲みやすく売れるからだと考えられる。しかし市販の清涼飲料水を日常的に取り続けると 500 ml 中に 60 g 以上含まれる糖の量から考えても糖の過剰摂取になりかねないので注意する必要がある。糖についてはフルクトースが他の糖と混ざることによって甘味が強くなることがわかったが、なぜそうなるかはわからなかった。

今後は缶詰ミカンについては使った柑橘類別の薬品の最適な濃度を調べ、自作ジュースと糖については自作ジュースを作る際に着色料としてカロテンを使い、できるだけ多人数に味見をさせ得られる結果を正確なものにしたいと思う。

9. 謝辞

サイエンス探求の授業やその他おいて協力して下さった長谷川恵先生、この研究に助言をくださった先生方、および発表の場で助言をくださった皆様方にこの場を借りてお礼を申し上げます。

私の研究に協力して下さってありがとうございました。

虫歯のモデル化 ～リン酸カルシウムの酸による浸食～

小山悠也 後藤拓也 山下雄紀

1. 緒言

「甘いものを食べると虫歯になる」とはよく言われることだ。この主な原因は、口腔内に存在するミュータンス菌に代表される虫歯菌が、歯に付着した糖분을餌として酸を放出し、その酸が歯を溶かすためである。これにより歯の表面のエナメル質が溶かされると、さらにその部分から虫歯菌による酸が浸食し、虫歯が進行していく。こうして歯が溶けだし虫歯となると、口内の pH は凡そ 5.5 以下であるという。

私たちはこの虫歯の発生する仕組みに興味を持ち、歯の主成分であるリン酸カルシウムが、酸に侵されていく様子を実験で調べることにした（正確には歯の主成分はハイドロキシアパタイトという物質であるが、安価で化学的組成の似ているリン酸カルシウムを使用した）。

実験を企画した当初、我々はリン酸カルシウムの固体が歯と同じような塊であると予測していたが、実際に届いたリン酸カルシウムは粉末状の固体であった為、初めにリン酸カルシウムを歯のような塊として実験に用いるようにすることを考えた。しかし、ゼラチンなどを用いて割り箸の表面にコーティングするなど、出来る限り実際の歯に近い形を造形できる方法を試したり、調べたりしたが、リン酸カルシウムの固形化、さらには可能ならばハイドロキシアパタイトの合成の方法について、高校の設備・予算内で可能なものを発見することができず、これを断念し、リン酸カルシウムを粉末のまま用いることとした。

リン酸カルシウムの酸に対する溶解量を測定するには、モリブデンブルー法とキレート滴定を利用した。モリブデンブルー法は溶液中のリン酸イオン濃度を測定するために利用され、河川の栄養状態などを調べるために使われることもある。一方のキレート滴定は溶液中のカルシウムイオン濃度を測定するために利用される。こちらは反応が簡潔であり、水の硬度測定にしばしば利用される。これらの方法により、酸に対するリン酸カルシウムの溶解量を測定した。

また、虫歯予防の歯磨き粉の成分として有名なものにフッ化ナトリウムがある。これを含んだ酸性溶液中ではリン酸カルシウムの溶解量が減少するのではないかと予想し、フッ化ナトリウムを作用させた場合の溶解量の測定も試みた。

2. 実験内容

1.モリブデンブルー法

用いた試薬

・試料 pH 1～6 の塩酸（キシダ化学，1 級のもの希釈して調整）それぞれにリン酸三カルシウム（キシダ化学，1 級）3.00g を溶かし、リン酸カルシウムに混ざっている不純物が十分にとけ切ったと思われるまで 2～3 日ほど時間をおいてからろ過したときのろ液を試料として用いる。

・2.5 M 硫酸 蒸留水 500 mL に濃硫酸（キシダ化学，1 級）70 mL を加える。

・酒石酸アンチモニルカリウム溶液 ビス二アンチモン(III)酸二カリウム（キシダ化学，特級）1.3715 g を蒸留水に溶かして 500 mL メスフラスコに移し、蒸留水を標線まで入れる。

・モリブデン酸アンモニウム溶液 モリブデン酸アンモニウム（キシダ化学，特級）20 g を 500 mL の蒸留水に溶かす。

・0.1 M アスコルビン酸溶液 1.76 g のアスコルビン酸（キシダ化学，特級）を蒸留水 100 mL に溶かす。

・混合試薬 2.5 M 硫酸 50 mL，酒石酸アンチモニルカリウム溶液 5 mL，モリブデン酸アンモニウム溶液 15 mL，アスコルビン酸溶液 30 mL を加えて混合する。

・リン酸イオン標準溶液 110℃ で乾燥したリン酸二水素カリウム（米山薬品工業，1 級）7.156 g をとり，蒸留水に溶かして 1 L とする。

操作

まず，検量線を作成する。リン酸イオン標準溶液を 0 mL，2 mL，5 mL，10 mL とり，それぞれ 50 mL メスフラスコに移し，混合試薬 8 mL を入れる。蒸留水を標線まで加えよく混ぜる。10 分間放置する。1 cm セルを用いて 880 nm の波長で吸光度を測定する。次にこれと同様の操作を試料で行い，それぞれ吸光度を測定する。検査波長の決定には，先行実験である「河川中のリン酸イオンの定量」の値を参考にした。

2.キレート滴定

用いた試薬

・0.02 mol/L EDTA 標準溶液 250 mL エチレンジアミン四酢酸二ナトリウム（キシダ化学，特級）1.861 g を蒸留水に溶かし，250 mL としてよく振り混ぜる。

・pH 10 緩衝溶液 塩化アンモニウム（キシダ化学，1 級）6.8 g を 30 mL の水に溶かし，濃アンモニア水（キシダ化学，特級）60 mL を加える。

・EBT 指示薬（キシダ化学，特級）

・試料 pH 1～4 の塩酸にリン酸カルシウム 3.00 g を溶かし，十分時間をおいてからろ過したろ液を試験に用いる。

操作

それぞれの試料 10 mL を 50 mL ビーカーに取り，緩衝溶液 2 mL と EBT 指示薬 2,3 滴を滴下する。そして，ビュレットを用いて EDTA 標準溶液を溶液が赤色から青色になるまで加え，その時の EDTA 標準溶液の滴下量を測定する。

3. 実験結果

キレート滴定とモリブデンブルー法の実験から得たカルシウムイオン濃度と pH の異なる溶液との関係は次頁に示す表のようになった。

キレート滴定の実験の結果(表 1)から pH1～4 の間のとき，pH が 1 下がるにつれてカルシウムイオン濃度が約 5～10 倍上がるということが分かった。また，モリブデンブルー法の結果(表 2)から炭酸の酸性度である pH 5 程度では，リン酸カルシウムの溶解はわずかであった。また，pH 5 の溶液中のカルシウムイオン濃度が pH 6 の数値よりも低く予想とは違うものになった。これは，非常に微少な値のカルシウム濃度の溶液を扱う実験を行っていたために生じてしまった誤差と考えている。

表 1 キレート滴定で得られた
カルシウムイオン濃度と pH の相関

pH	カルシウムイオン濃度 ($\times 10^{-4}$ mol/L)
1	869
2	88.6
3	11.0
4	2.20

表 2 モリブデンブルー法で得られた
カルシウムイオン濃度と pH の相関

pH	カルシウムイオン濃度 ($\times 10^{-4}$ mol/L)
5	0.074
6	0.098

次に、pH=1 の塩酸と pH1 の塩酸にフッ化ナトリウムを混合した溶液を比較した結果は下表のようになった。

表 3 pH1 の塩酸とフッ化ナトリウム混合溶液の相関

pH	NaF の有無	カルシウムイオン濃度 ($\times 10^{-4}$ mol/L)
1	有り	869
1	無し	708

(表 3)の結果から、フッ化ナトリウムによって微量ではあるがリン酸カルシウムの溶解を抑えることができると言える。

4. 考察

pH の値が小さくなるにつれてリン酸カルシウムの溶解する割合が飛躍的に大きくなるので酸性度が強ければ歯は溶解しやすくなるという仮説は正しかった。また、フッ化ナトリウムは歯の溶解を抑える効果があるという結論を得ることもできた。実験の結果から炭酸程度の酸性では直接的に歯を溶解させることはないの、虫歯の主な原因は虫歯菌によって生じる酸であることが予想できる。やはり、歯に付着した糖分を取り除く歯磨きは虫歯予防に有効だということであることが分かる。また、フッ化ナトリウム配合の歯磨き粉によりリン酸カルシウムの溶解防止効果は少し期待できると予想される。

5. 結論

この研究によって明らかになったことは、酸性度が強ければ歯の溶解する割合が飛躍的に増加することで、フッ化ナトリウムには歯の溶解を抑える効果が少しあるということである。また、実験の結果からモリブデンブルー法では必要な溶液を作る際の複雑さが原因で正確なリン酸カルシウムイオン濃度の測定がうまくいかなかったが、キレート滴定では色の変色がはっきりとわかるために容易に測定することができた。よって、モリブデンブルー法よりもキレート滴定のほうがこの実験に適していることがわかった。今回の研究においての課題はリン酸カルシウムの固形成のために

多くの時間を費やしたためにモリブデンブルー法やキレート滴定の実験の回数が少なくなり、少ないデータから報告書を作らざるを得なくなってしまった。また、今回の研究で計画していたキシリトールによる歯の溶解を防ぐ効果の検証が前述の理由のためにできなかった。どちらの実験についても、機会があれば続きを是非行ってみたいと思っている。

6. 参考文献

- ・はかってなんぼ（学校編） 日本分析化学会近畿支部 編 丸善株式会社

7. 謝辞

私たちの研究に積極的なご指導を頂いた板口徹郎先生，並びに化学科を初めとする理科の先生方，ありがとうございました。高校生の中にこのような研究や発表をする機会を得られたのは大きな財産となると思います。この1年の研究で学んだ技術，そして探求心を，大学に入った後も更に活かすことのできるよう頑張っていきたいと思っています。

風化のメカニズムを探る

丹羽 萌子

1. 緒言

私が本研究に取り組むことになったきっかけは、一昨年東京の地質標本館を訪れたことである。その際、美しい石や高価な石を見て、これらの石は道端の石とはどのような点で違っているのかを疑問に思い、調べてみたいと思った。そこで岩石について研究しようと思ったのである。

風化とは、地表の岩石が大気や水などによって破壊されたり、その性質が変化する作用である。前者を物理的風化、後者を化学的風化という。自然界では何千、何万年という長い年月がかかる。

物理的風化の例としては、岩石の割れ目に入り込んだ水の冷凍膨張や気温の変化による岩石自身の膨張収縮がある。化学的風化の例としては、酸性雨や地下水などによる酸化・加水分解・溶解などがある。この二つの風化は同時に起こるとされている。

これまでこの風化のメカニズムを明らかにするため、様々な実験が行われてきた。たとえば、物理的風化の実験については、高等学校地学 I B の教科書(1982)に取り上げられている他、岡本研(2006)にも報告されている。それによると花こう岩を加熱・急冷という作業を繰り返すと、破壊がおこること、冷却水が白濁することが報告されている。そして、この破壊は「鉱物による膨張率や収縮率の差による破壊である」と結論づけている。また、冷却水の白濁がミネラルウォーターと関係があるらしいことも述べている。また花こう岩の化学的風化については宇留野勝敏(1982)は、花こう岩を過酸化水素水につけるモデル実験を提案している。

これらの実験に用いられている花こう岩はマグマが冷えてかたまってできた火成岩の一種の深成岩であり、大陸地殻を代表する岩石である。等粒状組織であり、構成鉱物の粒径が大きいので、風化の実験にはよく用いられる。花こう岩の化学組成は SiO_2 を 66%以上含み、ほかに Al, K, Na, Fe, Ca も含んでいる。その代表的な構成鉱物と化学組成を表 1 に示す。灰長石、曹長石は斜長石をつくる端成分であり、カリ長石とともに長石類に属している。

表 1 花こう岩を構成する主要鉱物とその化学組成

カリ長石	KAlSi_3O_8	石英	SiO_2
曹長石	$\text{NaAlSi}_3\text{O}_8$	黒ウンモ	$\text{K}(\text{Mg,Fe})_3\text{AlSi}_3\text{O}_{10}(\text{OH,F})_2$
灰長石	$\text{CaAl}_2\text{Si}_2\text{O}_8$	角閃石	$\text{Ca}_2(\text{Mg,Fe})_4\text{Al}(\text{AlSi}_7\text{O}_{22})(\text{OH})_2$

また花こう岩は関西地方にも広く分布し、生駒山地など、多くの山は花こう岩からできている。非常に硬いため、古来より石材として用いられている。花こう岩が風化されてできた碎屑物をマサ土という。水はけが良く、グラウンドの土や園芸用の土などに用いられている。花こう岩もマサ土も関西地方に住む私たちにとって最も身近な岩石の 1 つである。

この花こう岩の風化については、上記のように「物理的風化」と「化学的風化」を別々にモデル化して調べたものはあるが、実際に 1 つの実験で二つの風化が同時に起こることを示す実験は少ない。また、化学的風化について化学組成の変化に注目したモデル実験もあまりない。そこで本研究では「石材の花こう岩を実験により風化させマサ土をつくること」を目標に、風化を実験室内に再現することを試みた。そしてそれにより風化のメカニズムを解明することを目指した。

具体的には、風化していない石材の花こう岩に自然界での「物理的風化」、「化学的風化」の作用を実験により加えれば、マサ土ができるのではないかと考えた。また「物理的風化の実験」と「化学的風化の実験」の両方を行い、「物理的風化の実験」で得られた結果を化学的に分析し、考察した。また「化学的風化の実験」で得られた結果についても「物理的風化」との関係性を考えた。

本研究では今までの研究ではあまり行われていない物理的風化の実験で得られた冷却水の分析を行った。その結果をもとに、自然でみられる花こう岩を通ってきた水などについて考察し、水の中に含まれる Ca^{2+} についての結果を多く得た。

そしてこれらの実験により「物理的風化」と「化学的風化」の関係を明らかにした。

2. 実験で使用した鉱花こう岩・鉱物・試薬

本研究で使用した花こう岩とその構成鉱物を表 2,3 に、試薬を表 4 に示す。

表 2 の花こう岩①～④はすべて石材として採掘されたものであり、本研究では風化していないものとして扱う。

表 2 実験で使用した花こう岩

	産地	特徴
①	不明	白・黒・灰の 3 種の鉱物を確認。白い鉱物であるカリ長石が最も多く含まれ、白い部分が多い。
②	不明	灰・薄灰・白・黒の 4 つの鉱物を確認。ひとつひとつの粒子が大きい。黒ウンモが多く含まれ、黒い部分が目立つ。
③	京都府京都市	灰・白・黒の 3 種の鉱物を確認。粒子の大きさが等しく、小さい。「鞍馬石」という愛称で呼ばれる。 「さび石」とも呼ばれ鉄分を多く含むらしい。
④	不明	オレンジ・灰・白・黒の 4 種の鉱物を確認。全体的にオレンジ色となっている。オレンジ色の鉱物は長石である。粒子が大きい。
自然に風化した花こう岩	大阪府交野市 (交野山)	全体的に茶色い。黒い鉱物も確認できる。

表 3 実験で使用した鉱物の産地

	黒ウンモ	灰長石	石英	角閃石	曹長石	カリ長石
産地	福島県 石川郡 石川町	東京都 大島郡 三宅島	福島県 石川郡 石川町	鹿児島県 川辺郡 河辺町	兵庫県 養父郡 関宮町	インド

表 4 実験で使用した試薬

ヘキサシアノ鉄(Ⅱ)酸カリウム	米山薬品工業株式会社 1級
ヘキサシアノ鉄(Ⅲ)酸カリウム	キシダ化学株式会社 1級
塩酸	キシダ化学株式会社 1級
炭酸水	富士キャニング株式会社
硫酸	キシダ化学株式会社 1級
硝酸	キシダ化学株式会社 1級
メチレンブルー	キシダ化学株式会社 1級
水酸化ナトリウム	キシダ化学株式会社 特級

3. 実験手順

a)物理的風化の実験

表 2 に示した花こう岩をハンマーで小さく砕き、ガスバーナーで 1 分間強熱し、蒸留水で冷却するという作業を 9 回繰り返した。この時、花こう岩をはさんだピンセットからの物質の混入がないことを確かめるため、ピンセットについても同様の操作を行った。

この操作により、花こう岩は破壊し、マサ土のような粒子が得られた。この粒子と塊のまま残った花こう岩についてそれぞれ観察した。

冷却水については、炎色反応を行い、その炎を直視分光器 (CD を使用して自作) を用いてスペクトルを観察し、含まれているイオンを調べた。その結果、 Ca^{2+} が検出されたので、そのおおよその濃度をカルシウム硬度パックテスト (ZAK-株式会社共立理化学研究所) を使用して調べた。

また実験の前で pH 試験紙 (ADVANTEC 東洋濾紙株式会社) を使用して pH の変化も測定した。

物理的風化の状況を確認するため、塊のままの花こう岩と実験前の花こう岩にそれぞれにメチレンブルーをピペットを用いてかけ染色し、観察した。

b)化学的風化の実験

二酸化炭素を含んだ雨水や酸性雨による化学的風化を再現するため、花こう岩の構成鉱物 6 種類をそれぞれ市販の炭酸水・3 mol/L の硫酸・3 mol/L の硝酸に 1 週間浸し変化を観察した。

これらの酸に溶け出した成分を調べるため、実験後の酸を回収し、炎色反応を行った。また、ヘキサシアノ鉄(Ⅱ)酸カリウム水溶液とヘキサシアノ鉄(Ⅲ)酸カリウム水溶液を加えて Fe^{3+} 、 Fe^{2+} の有無の確認した。

灰長石を浸していた硫酸、硝酸にゲル状物質の沈殿が見られたため以下の操作により定性分析を行った。

(i)硫酸

塩酸を加えて沈殿を溶解した後、水酸化ナトリウム水溶液を加える。さらに過剰に加えて変化を観察した。

(ii)硝酸

(i)と同じ。

4. 実験結果

a)物理的風化の実験

(i)塊のままの花こう岩(③)と自然に風化した花こう岩との比較

どちらにも黒い鉱物(黒ウンモ)の周りに茶色いサビ(矢印の部分) のようなものがみられた。

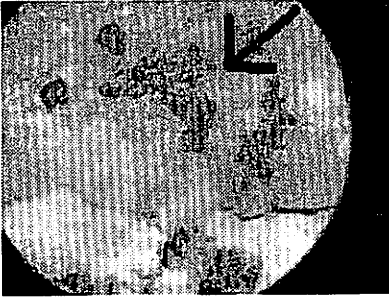


図 1 塊のままの花こう岩(③)

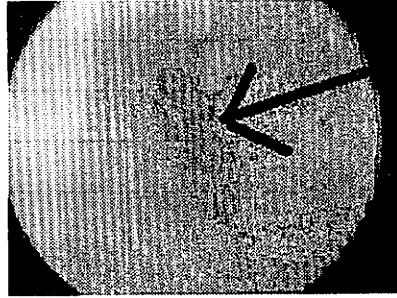


図 2 自然に風化した花こう岩

(ii)マサ土のような粒子と自然のマサ土との比較

粒子の形また各鉱物に分かれているという点は共通している。しかし、自然のマサ土は茶色であるにも関わらず本実験でできたマサ土のような粒子は各鉱物の色がそのまま(ピンク・白など)であり、自然のマサ土とは色が異なる。

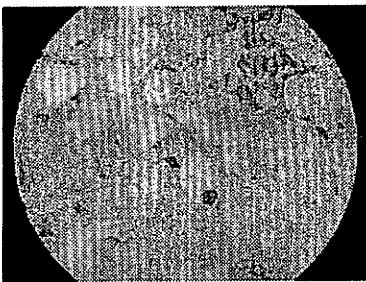


図 3 マサ土のような粒子

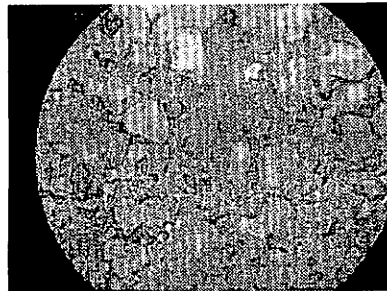


図 4 自然のマサ土

(iii)冷却水の分析

冷却水を炎色反応により調べたところ、いずれもオレンジ色の炎が観察された。また、表 5 に、直視分光器を用いてスペクトルを観察した結果と同定されたイオンを示す。①～④のいずれの冷却水にも Ca^{2+} が含まれていることが分かった。

表 5 冷却水の炎色反応のスペクトルと検出されたイオン

	スペクトルの色	検出されたイオン
①	赤・オレンジ・黄色・緑	$\text{Na}^+, \text{Ca}^{2+}$
②	赤・黄色・緑	Ca^{2+}
③	赤・黄色・緑	Ca^{2+}
④	赤・黄色・緑	Ca^{2+}

パックテストで測定したカルシウム硬度を表 6 に示す。いずれもブランクの値より大きな値なので、ピンセットからのイオンの混入があるとは考えにくい。

表 6 冷却水のカルシウム硬度

	カルシウム硬度
①	20～50
②	10～20
③	20～50
④	20～50
ピンセット	10～20

冷却水の実験の前後での pH の変化を表 7 に示す。この結果からは pH に大きな変化は見られない。

表 7 冷却水の pH の変化

	実験前	実験後
①	pH6	pH7
②	pH5	pH7
③	pH7	pH5～6
④	pH6	pH7

冷却水の炎色反応とカルシウム硬度パックテストの結果より、冷却水中に花こう岩から Ca^{2+} (①では $\text{Ca}^{2+}, \text{Na}^+$) が溶出していることが明らかとなった。ただし、pH の変化がそれほど大きくないことから、その溶出量はわずかであろうと考えられる。

(iv) 物理的風化の状態の確認

塊のままの花こう岩と実験前の花こう岩をメチレンブルーで染色したところ、花こう岩①～④すべての実験で長石類である白い鉱物がよく染色された。つまり長石類は実験によって破壊され多くの割れ目を生じ、その割れ目にメチレンブルーがしみこみ染色されたと考えられる。

b) 化学的風化の実験

(i) 鉱物の変化

ほとんどの鉱物には肉眼で確認できるような大きな変化はみられなかった。しかし灰長石を硫酸・硝酸に浸した実験では、ゲル状の沈殿物質が沈殿しているのが確認できた。また硫酸に浸した黒ウンモは脱色し、無色になっていた。

(ii) 酸の分析

表 8～10 に Fe^{2+} , Fe^{3+} , Ca^{2+} の定性分析の結果を示す、いずれも記号◎は強く検出、○は検出、△はやや検出、×は検出できなかったことを示している。

表 8 炎色反応による Ca^{2+} の検出

	石英	角閃石	曹長石	カリ長石	黒ウンモ	灰長石
硫酸	×	×	○	×	△	◎
硝酸	×	×	○	△	△	◎
炭酸水	—	—	—	—	—	—

表 9 ヘキサシアノ鉄(III)酸カリウム水溶液を加えた結果(Fe^{2+} の検出)

	石英	角閃石	曹長石	カリ長石	黒ウンモ	灰長石
硫酸	×	×	○	×	×	○
硝酸	×	×	○	×	×	×
炭酸水	×	×	×	×	×	×

表 10 ヘキサシアノ鉄(II)酸カリウム水溶液を加えた結果(Fe^{3+} の検出)

	石英	角閃石	曹長石	カリ長石	黒ウンモ	灰長石
硫酸	×	△	○	×	△	○
硝酸	○※	△	○	×	○	○
炭酸水	×	×	×	×	×	×

表 8 より主に長石類からカルシウムが溶け出していることがわかる。

表 8 の炭酸水については実験前の炭酸水に Ca^{2+} が含まれていたため調べなかった。

表 9,10 より Fe^{2+} の溶出は主に長石類からであり、 Fe^{3+} の溶出は長石類と黒ウンモからである。なお表 10 の硝酸に付けた石英は不純物が付着していたため考察から除いた。

(iii) 灰長石の実験で沈殿したゲル状物質の分析

硫酸、硝酸のどちらの溶液中の沈殿も、塩酸を加えると溶解し、黄色溶液になった。この溶液に水酸化ナトリウム水溶液を加えると白色沈殿が生じた。また過剰に加えると白色沈殿が溶解し、無色溶液となった。このことからこの沈殿には Al^{3+} が含まれていることが分かる。

また上記の黄色溶液にヘキサシアノ鉄(II)酸カリウム水溶液を加えると、濃青色沈殿が生じた。このことから Fe^{3+} も含まれていることが分かった。

以上の分析結果からゲル状物質は Al^{3+} 、 Fe^{3+} を含んでいることが分かる。

5. 考察

a) 物理的風化の実験

(i) マサ土のような粒子の色について

塊のままの花こう岩③で鉄さびのような茶色の部分があったことからマサ土の茶色は鉄さびの色ではないかと考えられる。このことを確認するため、化学的風化の実験で Fe^{3+} が検出された黒ウンモを浸していた硝酸を蒸発乾固をした。すると茶色の物質が得られた。このことからマサ土の茶色の成分は Fe^{3+} を含むと考えられる。

(ii) 冷却水中への Ca^{2+} の溶出について

この実験の過程で化学的風化が起こり、 Ca^{2+} が冷却水中に溶出したと考えられる。

花こう岩の化学的風化によって Ca^{2+} が溶出するのであれば、自然の湧水でも花こう岩を通り抜けてきたものには Ca^{2+} が多く含まれているはずである。表 11 は、湧水サーベイ関西(2006,2009)による関西地方の湧水の硬度の平均値と、地質の関係を示したものである。ここでいう堆積岩は、年代が 2 億年以上前の固結した砂岩・泥岩である。

表 11 湧水の硬度(平均値)と地質の関係

	花こう岩	石灰岩	堆積岩
硬度(平均値)	56.5	70.8	39.6
地点数	36 地点	11 地点	19 地点

表 11 より堆積岩よりも花こう岩を通り抜けてきた湧水の方が硬度が高く、 Ca^{2+} が多く含まれている。よって花こう岩が化学的に風化して Ca^{2+} が溶出していると考えてよいだろう。

石灰岩の湧水の硬度が高いのは、石灰岩の成分が炭酸カルシウムであるから花こう岩よりも多くの Ca^{2+} の溶け出しがあると考えられる。なお、同文献では pH, 含まれる鉄の量についても調査していたが、花こう岩と他の岩石でほとんど差異がなく、参考にならなかった。本当に花こう岩を通り抜けると Ca^{2+} が溶出するか、確認するため表 2 の花こう岩②と著しく風化した花こう岩をそれぞれ蒸留水に 1 週間浸し、蒸留水の変化を観察した。化学的風化によって Ca^{2+} が溶出するなら、風化が著しい方が Ca^{2+} をたくさん溶出するはずである。1 週間後の水の分析結果を表 12 に示す。

表 12 花こう岩を蒸留水に浸した蒸留水の変化

	花こう岩②の場合	著しく風化した花こう岩の場合
カルシウム硬度	50	52
Ca^{2+} (mg/mol)	20	22
pH	7.2	7.2

表 12 より、著しく風化した花こう岩を浸した蒸留水の方が Ca^{2+} が多く含まれていた。著しく風化した花こう岩の方が Ca^{2+} の溶出が大きいことが分かる。

以上のことよりこの実験の過程で物理的風化と化学的風化の両方が再現できていることが分かった。

b)化学的風化の実験

この実験では、花こう岩の構成鉱物が酸に侵されると Fe^{3+} , Fe^{2+} , Ca^{2+} , Al^{3+} などが溶出することが分かった。その変化は特に黒ウンモと灰長石で著しい。このことを物理的風化の実験とあわせて考えると、物理的風化の実験の冷却水の Ca^{2+} の溶け出しは主に長石類からであると考えられる。このことは物理的風化の実験で得られた塊のままの花こう岩と実験前の花こう岩をメチレンブルーにより染色させた実験において長石類が最も染色されていたこと、また灰長石の化学式に Ca^{2+} が含まれることにより、明らかである。したがって Ca^{2+} の溶け出しは灰長石からであり、灰長石は最も風化しやすいと考えられる。これは岡本研(2006)の図 2 に示された鉱物の風化抵抗度と矛盾しない。

6. 結論

この研究によって風化の過程を再現することができ、自然のマサ土と同じような粒子のマサ土(色以外)を作ることに成功した。そして以下の点が明らかになった。

- ・ マサ土の茶色の原因が鉄であるらしいこと。
- ・ 物理的風化の実験過程で化学的風化も起こっていること。
- ・ 花こう岩の風化では長石類(特に灰長石)、黒ウンモがもっとも風化しやすいこと。

今後の課題

- ・ 自然のマサ土の茶色の成分を化学分析により分析し、特定する方法を考えたい。
- ・ 今回の実験では天然試料を用いたため、長石や石英などで不純物の混入がみられた。今後は、より純度の高い人工の試料を使うなど精度を上げる実験方法を工夫すべきである。

7. 参考文献

岩石の風化と地球環境

北海道立教育研究所附属理科教育センター平成 19 年度理科研修講座資料

http://www.ricen.hokkaido-c.ed.jp/249tigaku_pdf/kou/1.pdf

岡本研.岩石の風化作用から何を学ぶかー岩石の風化作用と地球環境とのかかわりを考えるー.

北海道教育センター研究概要.2006,第 18 号,p85-94

力武常次ほか.高等学校 地学 I B.数研出版.1993,319p

宇留野勝敏.花こう岩の迅速風化.自然をしらべる地学シリーズ 3 土と岩石.1982,p19

石原舜三.さび石,とくに鞍馬石について.地質ニュース.1991,443 号,p42-49

湧水サーベイ関西.湧き水めぐり 1.東方出版.2006,207p,関西地学の旅④

湧水サーベイ関西.湧き水めぐり 3.東方出版.2009,194p,関西地学の旅⑥

8. 謝辞

大阪府立箕面東高等学校貴冶康夫先生には花こう岩③(鞍馬石)を提供していただいた。

本研究を進めるにあたり、井上純子先生には様々なアドバイスや協力をしていただいた。

本研究において化学科の先生方には協力をしていただいた。

心より感謝致します。

The Relationship of Nitro-Products between Soil and Soil Water

Natsuki Kawamoto, Kazumi Kosaka, Shino Kozuki, Mari Saiga, Zhang Hanlu

1. Introduction

Vegetables live on water. And the relation between vegetables and water is so close that it can hardly be neglected. However, certain harmful substances are found in water used for farming in recent years. Among them, the typically harmful ones are Nitrate-Nitrogen(NO_3^- -N), Nitrite-Nitrogen(NO_2^- -N), and Ammonia-Nitrogen(NH_4^+ -N). Vegetables suck up water, and they absorb these substances--but they may cause diseases.

Indeed, ⁽¹⁾Nitrogen is necessary for the growth of plants, and it is supplemented with the fertilizer containing Ammonia. Ammonia in fertilizer changes into NO_3^- -N from NO_2^- -N by the function of microbes in the soil.

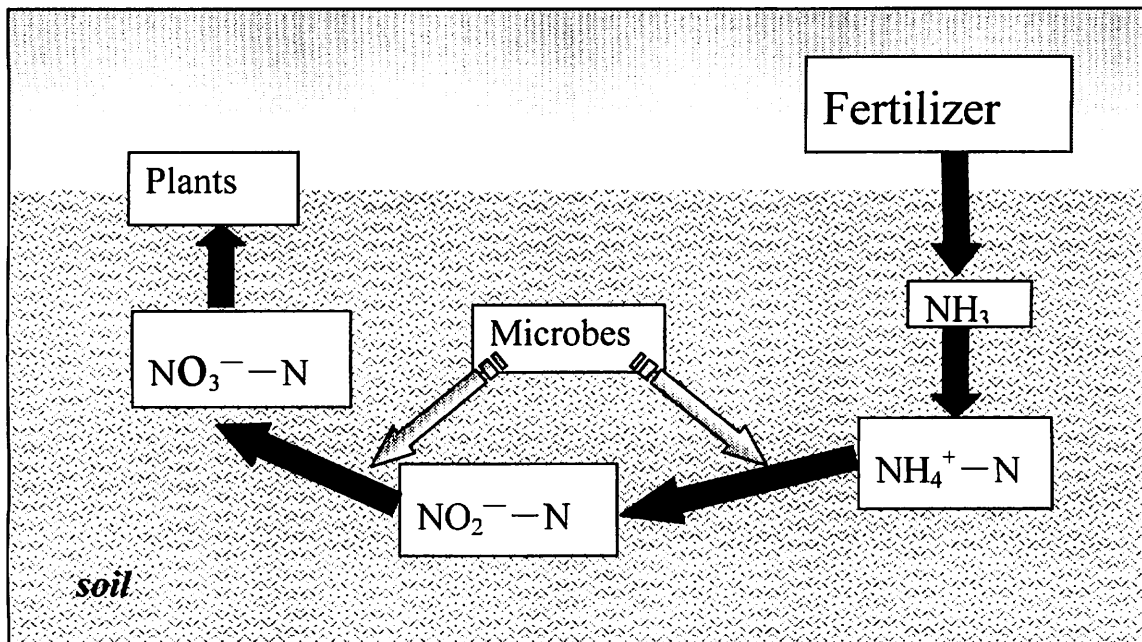


Fig.1 nitrogen cycle

⁽²⁾According to previous reports¹⁾; water polluted by nitrite causes baby methemoglobinemia, which separates hemoglobin from oxygen. Nitrite combines with Aminoacid, and turns into nitrosoamin which is cause of cancer.

⁽³⁾WHO, (World Health Organization), announced the report that over 2,000 cases occurred worldwide leading about 160 children to death. Besides, the 'Blue baby incident' may shock every one of us as an infant died in 30 minutes after eating the spinach polluted by NO_3^- -N. From these examples, it can be clearly seen how much the Nitro-products do harm to us.

We wanted to measure harmful substances that were contained in the soil, but a chemical testing instrument for this research was too expensive. So, we made an aqueous solution to take out ions in the soil and mixed it the soil. Then, we filtered it and measured its filtrate with instrument for water. This is the greatest point of

our experiments.

Generally it is said that ground water with harmful substances pollutes vegetables in farmlands. So, we researched water. Also, we assumed there were other factors such as fertilizers.

Because of this, we conduct the experiment as follows.

2. Experimental procedure

We measured the three kinds of substances (① NO_3^- -N ② NO_2^- -N ③ NH_4^+ -N) by chemical testing instrument (AQUA TESTER, NH_4^+ / NO_x -3Z, Kasahara Chemical Instruments Co.,Ltd.).

(1) Add the reagent into the water sample of 10 mL and shook it for 30 seconds.

(2) Add another reagent and did the same way.

After 5 to 10 minutes, the color of the sample changed its color.

The more NO_3^- -N, NO_2^- -N and NH_4^+ -N are contained, the darker its color changes. From the change, we can see how much substances are contained in each water sample.

[Research - WATER]

We measured two types of water.

1. The groundwater in Hirano area in Osaka Prefecture
2. Regular tap water in Otemae High School

[Research – SOIL]

We researched on three types of soil.

1. The soil of natural forests in Osaka Prefecture.
2. The soil fertilized with organic fertilizer in the site of Japan Agricultural Co-operatives.
3. The soil fertilized with chemical fertilizer in the site of Japan Agricultural Co-operatives.

Procedure-soil:

(1) Measure 2.1g CaCl_2 (Kishida Chemical Co., Ltd), and add it into 50g water.

(2) Measure 10g soil(dried at 100°C for four hours), add it into the solution of CaCl_2 , mix it and filter.

(3) Take 10g of the filtrate once a time, and follow the procedure of the research-water-procedure.

Then, we focus on the accuracy of data on soil we got from former experiments. Besides, we measure to find out whether the three harmful substances have influence or interference among each other. We carry out the experiments as follows. We used the soil that is hardly considered to be mixed with harmful substances. Then we measure and compare the value of the former ones with those that are artificially added with chemical substances.

Here is the way to make the sample that are artificially added with chemical substances:

Soil 200g, KNO_3 10g, KNO_2 10g, NH_4Cl 10g (Kishida Chemical Co., Ltd)

After we mixed them together and dried them, we measured them in the same way as that of normal soil. With the value showed by the testing instrument, we then calculate about the amount of the NO_3^- -N contained in the soil.

3. Experimental results

	NO ₃ ⁻ -N (mg/L)	NO ₂ ⁻ -N (mg/L)	NH ₄ ⁺ -N (ppm)
Water			
Groundwater	0.05	0.006	2.0
Tap water	1.10	0.006	0.2
Soil			
Forrest	0.05	0.006	5.0
Farmland with organic fertilizer	0.42	0.047	4.5
Farmland with chemical fertilizer	1.90	0.006	2.6

Table 1 The quantity of three substances in the soil and the water

(※According to the experiment on accuracy of soil's data, the amount of Nitrate Nitrogen(NO₃⁻-N) in the filtrate indicated 26% of the original amount of NO₃⁻-N in the soil.)

The soil from the farmland with chemical fertilizer showed the highest percentage of NO₃⁻-N.

⁽⁴⁾According to the Ministry of Health, Labour and Welfare, more than 10 mg/L of NO₃⁻-N is considered as the dangerous amount to be contained in tap water. And in our research to measure the amount of NO₃⁻-N, none of the results showed dangerous amount. As to NO₂⁻-N, all of the samples showed around 0.006 mg/L. As to NH₄⁺-N, though originally the sample should be clear, it showed a muddy color. It can be thought that NH₄⁺-N is easily influenced by magnesium chloride, so we couldn't measure it exactly.

4. Consideration

The groundwater itself is not so harmful as to cause the pollution. And, the soil from the farmland with chemical fertilizer showed the highest percentage of NO₃⁻-N. Also, from the experiment of accuracy, More NO₃⁻-N should be contained in the soil. From this result, it's possible to say that the cause of pollution is the chemical fertilizer as we expected. Fertilizer used for farming melts into water, and it brings about the pollution on water and vegetables.

5. Conclusion

From our experiments, it's possible to say that the cause of the pollution is not only the groundwater itself, but also the chemical fertilizer. Of course, it is difficult to stop using chemical fertilizer completely for the large farming area. However, if we keep on fertilizing the farmland with chemical fertilizer, percentage of the harmful substances would rise up more and more. We also have to remember that NO₃⁻-N can even be the cause of cancer in our body as well.

We can think of better ways of using the fertilized soil in the future. The soil that had been fertilized with chemical fertilizer should not be reused without clarification. So, we suggest to use the organic fertilizer more effectively. And each of us should be more aware of the effect of chemical fertilizer on water and soil, and also on the food people eat and what kind of problems it causes to people's health.

Even though the groundwater itself is clean, it became clear in our research that it is our own hand that is polluting the water. We need to think of better ways to keep our water and soil clean for our next generation and the future.

Finally, we can't measure the amount of $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ in the soil and the water exactly in this research. So, we would like to measure it exactly and find new considerations sometime.

6. References

(1) 「Fertilizer and Environment, Nitrogen flowed from farmland」 by National Institute for Agro-Environmental Sciences Sugahara Kazuo

<<http://www.niaes.affrc.go.jp/magazine/111/mgzn11111.html>>

(2) 「Control of Nitrate Nitrogen flowed from farmland」 by Morihiro Takano Associate Professor (Ishikawa National College of Technology Civil Engineering)

<<http://www.ishikawa-nct.ac.jp/lab/C/tomi/www/kenkyu/takano.pdf>>

(3) 「Delivery of organic vegetables : Migrant」 By Migrant

<<http://www.migrant.co.jp/html/report3.html>>

(4) 「Ordinance No.101 of the Ministry of Health, Labour, and Welfare」 by Ministry of Health, Labour and Welfare

<<http://law.e-gov.go.jp/htmldata/H15/H15F19001000101.html>>

7. Acknowledgement

We are deeply grateful to: Katsuhisa Fukuno for supporting us from various sides.

Kanako Onishi for helping us to make our presentation.

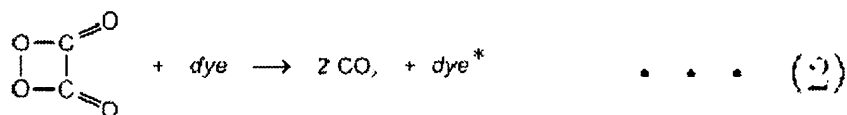
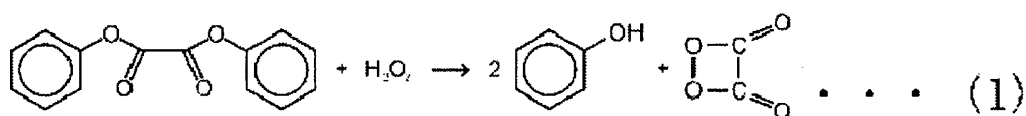
Yasunori Nishino for cooperating in collecting soils.

蛍光

川瀬裕基 田中智章 町田真直 山田晃弘

1. 緒言

ケミカルライト(以下蛍光体とする)は染料と発光開始剤からできている。たとえば、発光開始剤にあたるシュウ酸ジフェニルを過酸化水素で酸化し、二分子のフェノールと一分子の過シュウ酸エステルに分解する。過シュウ酸エステルはさらに酸化され、1,2-ジオキセタンジオン C_2O_4 になる(1)式。生成した 1,2-ジオキセタンジオン C_2O_4 と染料にあたる蛍光色素(dye)を混ぜると、1,2-ジオキセタンジオン C_2O_4 は自発的に分解して二分子の二酸化炭素に変わり、その際蛍光色素にエネルギーを与えて励起させる(2)式。励起された蛍光色素はエネルギーを光($h\nu$)として発生しながら基底状態に戻る(3)式。以上の反応はシュウ酸ジフェニルと蛍光色素との混合物に過酸化水素を混ぜることで起こる。また、発生する光の波長、すなわち発光色は蛍光色素の分子構造に依存する。



混色方法には加法混色と減法混色の二種類がある。加法混色は色を表現する媒体のうち、様々な色の蛍光体を組み合わせて観る者の方へ放つことで色刺激を起こすもので、この場合、典型的に使われる原色は赤、緑、青の三色であり、光の三原色と言われる。この三色を合成すると白色を示す。減法混色は色を表現する媒体のうち、色や光を反射して観る者に色刺激を起こすもので、光の吸収によって色を作る。その合成の元になる基本色は一般に色の三原色と言われ、緑青、赤紫、黄を用いて表す。この三色を合成して着色された物体の表面は、光の三原色の場合と反対に黒色になる。今回の研究では、蛍光体の混色がどちらの混色方法を取るのかを調べた。実験の方向性を決めるために赤色と青色の蛍光体を混ぜた結果が紫を示したので、絵具の感覚で減法混色であると仮定して実験を進めた。

2. 実験手順

表 1 染料の混合比(滴数)

染料	赤色	青色	黄色	緑色
I	2	0	3	0
II	2	3	3	0
III	1	3	0	0
IV	1	0	0	3
V	1	15	2	0

○ 染料を混ぜたときの発光色の混色方法を調べた

ケミカルライト(ダイソー商品)を発光開始剤と染料に分離した。ケミカルライトは、内部に染料の入ったガラスの管があり、その周りにプラスチックの管がある。発光開始剤はガラスとプラスチックの間の空間に蓄えられていて、まず、ペンチを用いて発光開始剤を取り出した。このとき、内部のガラス管を傷つけないようにした。その後、ガラス管から染料を取り出した。そして、染料は色別に、発光開始剤はまとめて保存した。分けた染料は、比率を滴数として、スポイトを用いて試験管内で混合した。その後、発光開始剤を加えた。減法混色の三原色をもとに、試験管内で染料を混合し、発光開始剤を加えて発光色を観察した。

同様に、加法混色の三原色をもとに、試験管で染料を混合し、発光開始剤を加えて発光色を観察した。染料の混合比は表 1 に示す。

先の実験結果を元に加法混色だと仮定し、表 1 の V の混合比で染料を試験管に入れて混ぜ、300 mL ビーカーを用いて湯煎で 70℃ に加熱し、発光開始剤を加えて発光色を確認する。湯煎方法は下記の図に示す。

○ 温度と発光時間との関係

赤色に発光する染料を 300 mL ビーカーを用いて湯煎で 40,60,80,100℃ に加熱し、発光開始剤を加えて発光させた。発光中の温度を保った状態で発光時間を計測した。青色についても同様の方法を用いて、60,80℃ における発光時間を計測した。

○ 蛍光体の発光の相違

赤色、青色、黄色の染料を 1 滴、15 滴、2 滴で混合して作成して、70℃ にした白色の染料と、70℃ に加熱した市販の白色の蛍光体に発光開始剤を加えたものを比較して観察した。染料を 2 本の試験管に入れ、300 mL ビーカーを用いて湯煎で 70℃ に加熱し発光開始剤を加えて発光の違いを観察する。また、市販の染料の温度の違いによる光り方の相違を調べるため試験管に入れた染料を 2 本用意し、一方は室温、他方は 70℃ に 300 mL ビーカーを用いて湯煎で加熱し、発光開始剤を加えて光り方の相違を観察する。

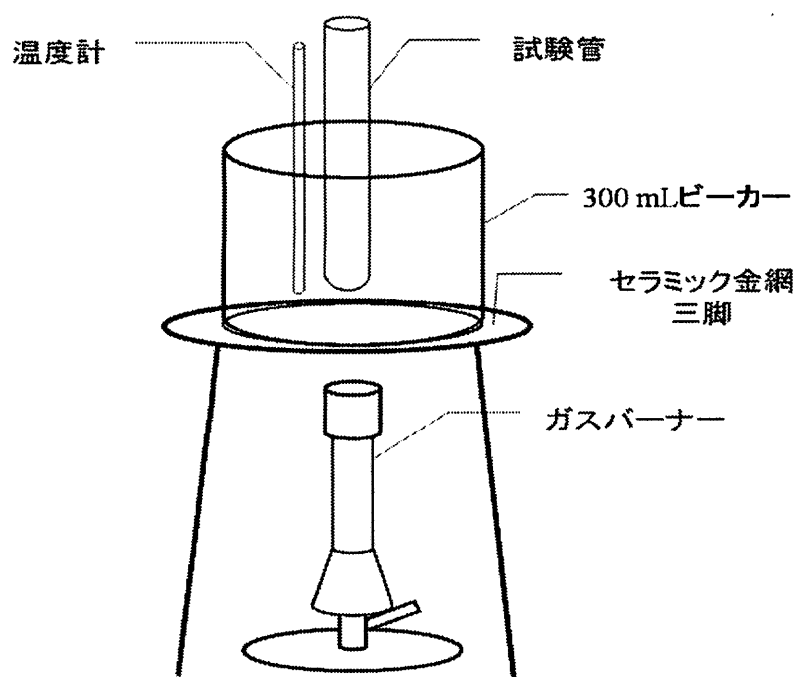


図 1

3.実験結果

○ 染料を混ぜたときの発光色の混色方法を調べる

加法混色で予測される色は白色であり，減法混色で予測される色は暗褐色である。混色の実験についての実験の結果を表 2 に示す。I と II は減法混色の原色三原色をもとにした混色で，III と IV は加法混色の原色をもとにした混色である。I II の実験結果を比べると，II の方が光の量の少ない発光をした。また III は上部のみはっきりと発色し，下部は白色に近い紫色となった。IV は全体的に明らかに暗い発光を示した。

I ~ IV の実験では加法混色と減法混色の両方の特徴を示したため，V の実験を行った。V は染料を 70℃ に加熱して発光させた結果，強い白色光を示した。

表 2 染料の混合比(滴数)

染料	赤色	青色	黄色	緑色	発光色
I	2	0	3	0	橙色(明)
II	2	3	3	0	橙色(暗)
III	1	3	0	0	赤紫色
IV	1	0	0	3	黄色(暗)
V	1	15	2	0	白色

○ 温度と発光時間の関係

赤については，40℃では 4805 秒，60℃では 2160 秒，80℃では 720 秒，100℃では 810 秒という結果が得られた。ただし，100℃の赤色については，蛍光体自体が沸騰した。青については，60℃では 2274 秒，80℃では 573 秒という結果が得られた。これらを表に示すと，表 2 のようになった。

温度	313[K] (40℃)	333[K] (60℃)	353[K] (80℃)	373[K] (100℃)
染料 赤[s]	4805	2160	720	(810)
染料 青[s]	---	2274	573	---

表 3

○ 蛍光体の発光の相違

市販の白色の蛍光体を混色の実験 V と同じ条件で比較した。70℃に加熱した市販の白色の蛍光体と混色の V の実験結果を比較した結果，市販の蛍光体の方が青みがかって発光した。また，

発光終了後の染料を比べると、Vの実験結果の方が赤みがかかった色をしていた。市販の白色の染料を温度を 70℃と室温(25℃)変えて光らせたところ、室温の染料に比べて 70℃に加熱した染料が青みがかかった発光をした。

表 4 発光の相違

試薬	発光色
市販白(25℃)	純白
市販白(70℃)	青系統
実験 V(70℃)	赤系統

4.考察

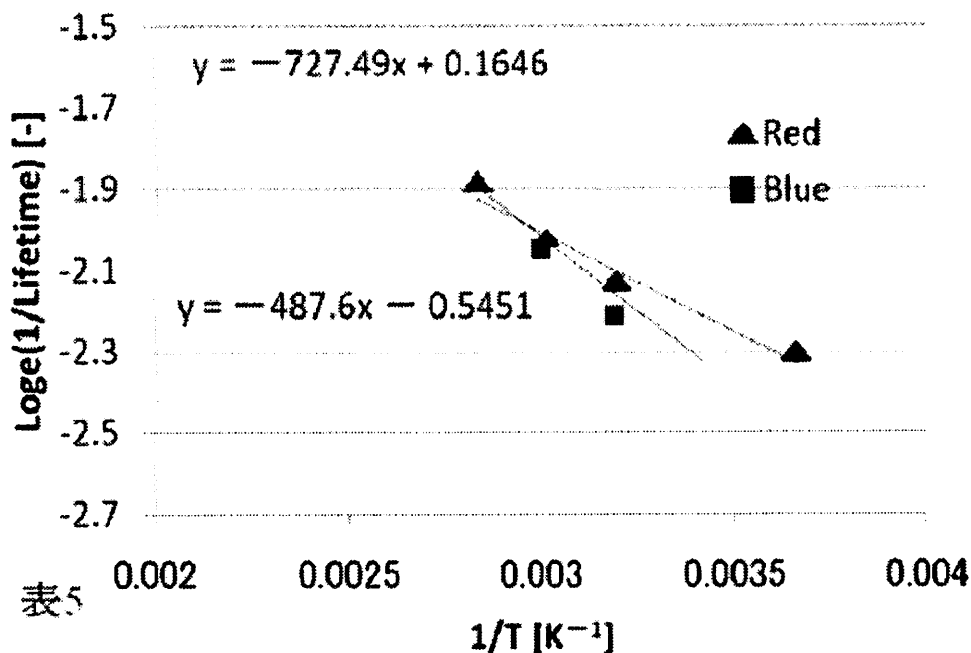
○ 染料を混ぜたときの発光色の混色方法を調べる

結果にも示したように、加法混色であれば白色に近づき、減法混色であれば暗褐色に近づく。実験結果の表 1 の実験 V によって白色の蛍光体を作ることができた。このことから蛍光体の混色方法は加法混色であると考えられるが、実験 II, IV では蛍光体の発色は減法混色によって予測される発光を示した。光の量が弱くなった原因は光の吸収で、吸収が起こったことで染料自身の色が目立ったと考えられる。温度を上げることで発光強度を上げると、反応によって発生する $h\nu$ の量が増え、発光色の割合が増えることで加法混色によって予測される色に近づいていく。このことから蛍光体の混色方法は減法混色と加法混色の両方を同時に行っている。結果として、染料の色と発光色が混ざり合うことで蛍光体の色が決定する。発光強度の低い状態や発光強度の低い染料に関しては減法混色で予測される色に近づいていくと考えることができるが、発光強度が高い状態では実験の結果ででたような加法混色、減法混色の両方を同時に行う。

○ 温度と発光時間の関係

蛍光体が発光する原理は化学反応によるものであるから、活性化状態に達する粒子数が増えれば反応速度が上がり、単位時間当たりの光の発光量が増え、発光強度が上がる。温度を上げ、反応速度を上げることで、エネルギーの単位時間当たりの消費量が増える。エネルギーの総量は一定なので発光時間は短くなる。反応速度は単位時間に減少した反応物質質量であらわすことができる。また反応速度は温度や濃度といった条件によって変化する。ある反応について温度と反応速度の関係を実測し、 $\log_e k$ と $1/T$ のグラフにしたものをアレニウス・プロットという。アレニウス・プロットの説明には式(4)にあるアレニウス式を用いる。A, E, R は定数なので E/R , $\log_e A$ は定数である。このことから $\log_e k$ と $1/T$ は比例グラフになることが分かる。ここで、表 2 の各温度と発光時間を見ると、温度が高くなれば発光時間が短くなるのがわかる。ただし、100℃の赤色については、蛍光体自体が沸騰したので測定値に大きな誤差が出たと考えられる。今回の実験で使った染料と開始剤の量は温度と色によらずに一定だったので、全体の反応量は一定であったとみなす。そのため発光時間が短くなった分、反応速度が速くなったと考えられるので、発光時間の逆数が反応速度に比例すると仮定する。そこで、先に示したアレニウスの式を利用し、赤色、青色の各染料について、温度と発光時間の関係をグラフに表 5 に示した。表 5 内の上式は赤色の染料の値を代入した時の式であり、下式は青色の染料の値を代入した時の式である。グラフから赤色の染料の発光時間は温度に依存し、

温度が上がれば発光時間は短くなることわかる。青色に関しても赤色と同様のグラフの形をとるとして 40℃,100℃は推定値でプロットした。また、グラフの傾きの絶対値が大きいことから今回使った染料については青色の染料が赤色の染料よりも温度依存が大きいことが分かる。



$$k = Ae^{-\frac{E}{RT}}$$

$$\log_e k = -\frac{E}{RT} + \log_e A$$

$$\log_e k = -\frac{E}{R} \cdot \frac{1}{T} + \log_e A$$

式(4)

k : 反応速度定数
 A : 頻度因子
 R : 気体定数
 T : 絶対温度
 E : 活性化エネルギー

○ 蛍光体の発光の相違

25℃で純白の市販の白色の蛍光体が、70℃に加熱した場合、青みがかった色で発光した。このことから、使用した白色の蛍光体内では青色の温度依存性が高いことが分かった。青色の温度依存性が高いことと表 5 におけるグラフの傾きの絶対値が赤色の染料よりも青色の染料の方が大きいことに合致する。

5.結論

○ 染料を混ぜたときの発光色の混色方法を調べる

混ぜ合わせた染料を光らせることで白色の蛍光体を作ることができた。このことから蛍光体の発光色の混色方法は加法混色である。しかし、発光していないときの染料自身の色も影響しているため減法混色も同時に行っている。つまり蛍光体の色は染料自身の色と発光色とが混ざり合うことで決定する。今回の実験では分光計や吸光計を使つての計測ができず、全て目測となってしまった。器具を使用して結果を数値化することでより客観的なデータが得られたと思う。光の吸収についても考える余地があった。また、他物質の利用によって白色の発光の発光色を変化させる実験などを

調べることで多くの色の発光が可能であると考えられる。

○ 温度と発光時間の関係

373K の赤色については、蛍光体自体沸騰したので測定値に大きな誤差が出たと考えられるが、赤色、青色の各染料について温度が高くなれば発光時間は短くなり、発光強度が上がった。また、アレニウスの式を利用したグラフの傾きを比較してみると、青色の染料の方が赤色の染料よりも変化量が大きいので、今回使用した染料に関しては青色の染料の方が赤色の染料に比べて、発光時間(反応速度)が温度に大きく依存することがわかる。青色の染料の発光強度が温度依存が大きいことから、「染料を混ぜたときの発光色の混色方法を調べる」実験において、70℃に加熱した市販の白色に入っている青色の染料も赤色の染料より大きな温度依存性を持っている事が推測され、温度が高くなると青色発光が赤色発光に比べ、強くなったため青みがかかった発光が観測されたと考えることができる。

○ 蛍光体の発光の相違

市販の白色の蛍光体が青みがかかった色で発光したことから、使用した白色の蛍光体内では青色の温度依存性が高いことがわかった。このことは「温度と発光時間の関係」の実験からわかった青色の染料の方が赤色の染料に比べて、発光時間(反応速度)が温度に大きく依存することと合致する。よって、染料によって異なる温度依存性があると考えられ、温度依存性の高い色が混色した時に強く光って見える。

今回の実験では、時間が無かったので、青の染料については 60℃、80℃においては測定できなかった。時間があれば、より細かいデータがとることができた。また、より多くの色の蛍光体でこの実験を行い、さまざまな色について発光強度の温度依存性を調べることができたと思う。

6.謝辞

実験を進めるにあたって多くの御指導をいただくとともに、暖かく見守ってくださった化学科の先生方ありがとうございました。とりわけ福野先生には各実験についての細かい考察及び基礎知識のための御説明等多くの御迷惑をお掛けしました。また、実験を進めるための手引きをしていただいたり、プレゼンテーションの確認ありがとうございました。私たちの実験が成功したのは先生方のおかげです。本当にありがとうございました。

そのほか暗室、万力など実験に必要な器具をお貸しいただいた物理科の先生方、ブラックライトや CCD カメラをお貸し下さった生物科の先生方ありがとうございました。おかげで実験をスムーズに進めることができました。本当にありがとうございました。甲南大学の松井先生、発表に対して素晴らしいコメントをありがとうございました。おかげで本稿を仕上げるにあたってとても力になりました。ありがとうございました。

7.参考文献

フリー百科事典ウィキペディア (Wikipedia) <http://ja.wikipedia.org/wiki/%E8%89%B2>

化学の新研究 ト部吉庸 著 三省堂出版

大手前高校 化学科授業用プリント

食品に含まれるソルビン酸の調査

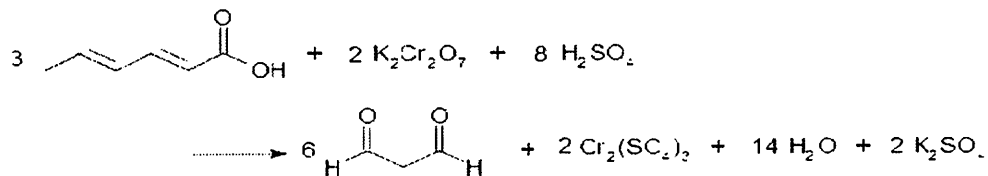
治部晶子 山田咲子

1. 緒言

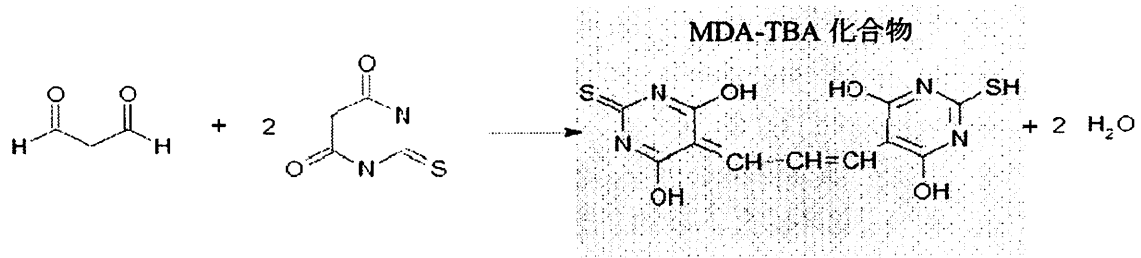
今回私達は、一般に売られている加工食品が消費期限を大幅に過ぎても見た目により変化がなく、腐敗したようすを見せないことに疑問を持った。そこで、食品に含まれる添加物についての調査を行うことにした。食品業界で広く使用されている食品添加物であるソルビン酸について、適切な含有量の調査を行った。

ソルビン酸は、組成式 $C_6H_8O_2$ 、分子量 112.13、融点 133.0–135.0、IUPAC 名 2, 4-ヘキサジエン酸の不飽和脂肪酸である(図 1)。固体は白色結晶をしており、水への溶解度は 0.25 g/100 ml と低く防腐効果があり、保存料としては主にソーセージやかまぼこ等の食品練り製品に対して遊離酸(注 1)として用いられる。カビ、酵母、好気性細菌に対して制菌効果を持つが、抗菌力は pH により大きく変化し、酸性側で強い。食品中のソルビン酸の有無を確認する方法に、「チオバルビツール酸法」がある。それは、ソルビン酸を酸化剤である二クロム酸カリウム(組成式 $K_2Cr_2O_7$)で酸化させて生じるマロンジアルデヒド(図 2 分子式 $C_3H_4O_2$)を、チオバルビツール酸(図 3 分子式 $C_4H_4O_2N_2S$)によって赤く呈色させるものである。呈色のメカニズムは以下の通りである。

- ・ソルビン酸を二クロム酸カリウムによって酸化すると、マロンジアルデヒドが生成する。



- ・マロンジアルデヒドに 2-チオバルビツール酸を反応させると、縮合反応によってマロンジアルデヒド 1 分子から MDA-TBA 化合物 1 分子と水 2 分子が生成する。この MDA-TBA 化合物が赤色を呈する。



一般に売られている加工食品は、厚生労働省の食品添加物使用基準リストによりソルビン酸の使用限度(食肉製品では 2.0 g/kg)が定められている。しかし、普段見掛ける家庭の加工食品が消費期限を過ぎてもなかなか腐敗しないことから、私たちは、日常生活でそれらの製品を差し使えなくするために定められた使用限度以上のソルビン酸が含まれているのではないかと考えた。そして、自分たちでより適切な分量のソルビン酸が含まれている食品が作れるのではないかと考えた。また、ソルビン酸の呈色実験を応用して、ソルビン酸の含有量を調べられる指標を作成できるのではないかと考えた。具体的には呈色した赤色の色の濃さを吸光度で表し、それがソルビン酸の含有量を示す値として使用できると考えた。

ここで、吸光度とは、物体の光の吸収の強さを表す数値であり、物体中を光が通過するときの入射光強度と透過光強度の比の対比で表すものである。吸光度が大きいほど、呈色反応について言えばその呈色が濃いことになり、吸光度が小さくなるにつれて色が薄くなっていく。吸光度の数値は対数関数的に表されるので、例えば透過率が 0.1(吸光度が 1)の物体と 0.01(吸光度が 2)の物体を比べると、吸光度が 1:2 であるのに対して透過率は $10^{-1} : 10^{-2}$ になっている。

現在、加工食品に使用されている食品添加物は、食品衛生法第 21 条の規定に基づき作成することとされている「食品添加物公定書」に記載されている安全性が確認されたもので、細菌やカビなどを殺したり、繁殖を抑えたりさまざまな効果がある、私たちの食生活には欠かせないものである。人体には無害であるとする意見も多く、実際に食品添加物は現代の食品産業の発展に大いに貢献している。しかし、一方では過剰に摂取することで染色体異常をおこしたり、肝臓に悪影響を与えたりするものもあると言われている。毒性については様々な意見が言われているが、多くの食品添加物はその実態がいまだ明らかになっていない。そこで私たちは、多くの人を抱えている食品添加物への悪いイメージを減らしたいと思い、そのために、食品に加える食品添加物の量を今よりも減らすことが出来ればよいと考えた。

図 1. ソルビン酸の構造式

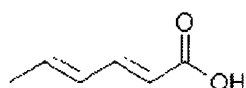


図 2. マロンジアルデヒドの構造式

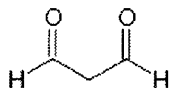
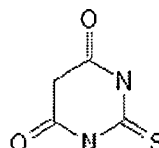


図 3. 2-チオバルビツール酸の構造式



注 1. 遊離酸とは、塩を形成せずにイオン化した状態で存在している状態の酸のことを言う。

2. 実験手順

実験 1

ソルビン酸入りハム・ソーセージ・かまぼこの呈色実験

- ① スーパーで購入したハムを試料とし、乳鉢と乳棒を用いて細かく砕き、1.0 ～ 2.0 g 試験管に入れる。そこに精製水 5.0 ml を加え、煮沸した。
- ② 試験管に①の上澄み液を 2.0 ml とり、さらに 0.05 %の二クロム酸カリウム硫酸酸性水溶液を加え、よく混ぜてから煮沸した。
- ③ 煮沸した後、②の試験管に 2-チオバルビツール酸(キシダ化学株式会社、特級)0.1 g を加え加熱した。

・実験の留意事項

*実験で使用する 0.05 %のニクロム酸カリウム硫酸酸性水溶液の作成

ビーカーにニクロム酸カリウム(キシダ化学株式会社, 特級)50 mg を電子天秤(島津製作所, BL-020S)で量り, 精製水 100 ml を加えて溶かす。実験に使用する際には, 下記の溶液を添加しニクロム酸カリウム硫酸水溶液とする。

※精製水 120 ml に濃硫酸(キシダ化学株式会社, 1 級)1.0 ml を加えたものを作成する。

*ハムによく用いられる亜硝酸ナトリウムなどの還元性がある添加物が試料内に存在する場合, ニクロム酸カリウムの色が消えることがあるが, その際はさらに 0.05 %のニクロム酸カリウム水溶液を色がつくまで加える。

実験 2

ソルビン酸の含有量を変えたソーセージの作成・観察

- ① ボールに豚挽き肉 200 g , すりおろしたタマネギ大さじ 2 杯, 塩小さじ 1/2 杯, こしょう少々, すりおろしたニンニク少々を加え, よく混ぜた。
- ② それを 5 等分し, それぞれに, 緒言で述べた食肉製品のソルビン酸使用限度(2.0 g/kg)の 2, 1, 1/2, 1/4, 0 倍の質量のソルビン酸を加え入れ, 更によく混ぜた。
- ③ それぞれ二等分し, ラップに包んで約 10 分蒸した。
- ④ 粗熱がとれるまで冷ました。
- ⑤ その後は自宅の冷蔵庫 (2.5 °C) で保存しながら腐敗するまでの期間観察する。毎日デジタルカメラで経過を撮影する。

※食材はすべてスーパーで購入した。

※ここでの「腐敗」とは, 人が日常で「この食品は腐っている」と認識する程度の腐敗臭, カビなどが発生した状態をさす。

実験 3

実験 2 で得た肉汁の呈色実験

- ① 上記のソルビン酸入りソーセージを作成したときに出た肉汁(すべてのソーセージから出た肉汁を混合したもの)を, 漏斗, 漏斗台, ろ紙, ガラス棒, ビーカーを用いてろ過。ろ過した肉汁の濃度の相対値を 1 と定める。
- ② 肉汁をビーカーに 4 等分し, 精製水を用いてそれぞれ元の濃度の 1, 1/10, 1/100, 1/1000 倍の濃度に薄める。
- ③ 試験管 4 本に, それぞれ薄めた肉汁 2.0 ml , 精製水 5.0 ml , 0.05 %ニクロム酸カリウム硫酸水溶液 2.0 ml を加え, バーナーで煮沸する。
- ④ 煮沸したものに 0.1 g のチオバルビツール酸を加え, さらに呈色するまで加熱する。

実験 4-1

濃度を変えたソルビン酸水溶液の呈色・吸光度測定実験 A

- ① 精製水 100 ml にエタノール 100 ml を加え、50 % のエタノール水溶液を作成した。ソルビン酸は水への溶解度が低いため、これを溶媒として用いた。
- ② 電子天秤で量ったソルビン酸 2.0 g に溶媒を溶かして 100 ml の溶液とした。これを A 液とする。
- ③ A 液を 50 ml とり、溶媒を加えて 100 ml とした。これを B 液とする。
- ④ B 液を 80 ml とり、溶媒を加えて 100 ml とし、これを C 液とする。
- ⑤ C 液を 50 ml とり、溶媒を加えて 100 ml とし、これを D 液とする。
- ⑥ D 液を 50 ml とり、溶媒を加えて 100 ml とし、これを E 液とする。
- ⑦ E 液を 50 ml とり、溶媒を加えて 100 ml とし、これを F 液とする。

以上の操作で作成した溶液のソルビン酸濃度は表 1 の通りである。

表 1. 作成したソルビン酸溶液の名前と濃度

溶液	A	B	C	D	E	F
ソルビン酸濃度 (mg/ml)	20	10	8.0	4.0	2.0	1.0

- ⑧ 作成した A, B, C, D, E, F の試料は各々 10 ml ずつ試験管にとり、それぞれニクロム酸カリウム硫酸水溶液 2.0 ml を加え、バーナーで煮沸した。
- ⑨ 煮沸したものに 2 - チオバルビツール酸 0.1 g を加え、溶液が十分に赤く呈色するまで再びバーナーで加熱した。
- ⑩ 呈色した試料を、それぞれ溶媒で 3 倍に薄めた。
- ⑪ 傷のないきれいなセルを溶媒で洗い、溶液 A で共洗いしたあと、溶液 A を 2.0 ml ずつ入れた。
- ⑫ 溶液の入ったセルを吸光光度計(島津製作所 UVmini-1240)に設置し、スペクトラムを測定した。
- ⑬ 測定の終わったセルを取り出し、溶媒で洗ったあと、溶液 B で共洗いし、溶液 A と同様の操作を行った。
- ⑭ 以下、溶液 C, D, E, F について同様の操作を行った。

※操作はすべて 10 ml 駒込ピペット、100 ml ビーカーを用いて行った。

実験 4-2

濃度を変えたソルビン酸水溶液の呈色・吸光度測定実験 B

- ① 精製水 100 ml にエタノール 100 ml を加え 50 % のエタノール水溶液を作り、これを溶媒とした。
- ② 溶媒 99.8 g に、0.20 g のソルビン酸を加えて 0.20 % のソルビン酸エタノール溶液を作った。
- ③ 吸光度測定実験 1 と同様に希釈したが、本実験では A(2 mg/ml), B(1 mg/ml), C(0.5 mg/ml), D(0.2 mg/ml), E(0.02 mg/ml), F(0.002 mg/ml)とした。
- ④ 作成した A, B, C, D, E, F の試料をそれぞれ試験管に 10 ml ずつとり、ニクロム酸カリウム水溶液 2.0 ml を加え、煮沸した。

- ⑤ 煮沸したものに2-チオバルビツール酸0.1gを加え、溶液が十分に赤く呈色するまで再びバーナーで加熱した。
- ⑥ 呈色した試料を、それぞれ溶媒で3倍に薄めた。
- ⑦ 傷のないきれいなセルを溶媒で洗い、溶液Aで共洗いしたあと、そのなかに溶液Aを2.0mlずつ入れた。
- ⑧ 溶液の入ったセルを吸光光度計(島津製作所 UVmini-1240)に設置し、スペクトラムを測定した。
- ⑨ 測定の終わったセルを取り出し、溶媒で洗ったあと、今度は溶液Bで共洗いし、溶液Aと同様の操作を行った。
- ⑩ 以下、溶液C, D, E, Fについて同様の操作を行った。

※操作はすべて10mlメスピペット、100mlビーカーを用いて行った。

3. 結果

実験1

ソルビン酸入りハム・ソーセージ・かまぼこの呈色実験

表2には、呈色した試料の色相の詳細を示した。

表2. 市販のハム, ソーセージ, かまぼこの呈色の様子

	ハム(豚肉)	ソーセージ(豚肉+鶏肉)	かまぼこ(魚肉)
試料片煮沸後 …①	白濁色になった	同左	同左
二クロム酸カリウムを加えた上澄み液煮沸後 …②	赤橙色を示した。	ハムよりも薄い赤橙色を示した。淡黄色に近い。	ハムよりも薄い赤橙色を示した。淡黄色に近い。
②に2-チオバルビツール酸を加えた上澄み液煮沸後 …③	加熱を行う前に余熱で薄い赤色を呈した。ソルビン酸を含有していることが確認された。(表記と一致)	加熱すると、ハムの場合と同程度の濃さで、橙色に近い色を呈した。ソルビン酸を含有していることが確認された(表記と一致)	ハム・ソーセージと比べて薄い、橙色に近い色を呈した。ソルビン酸を含有していることが確認された(表記と一致)

表2の「試料片煮沸後」は、試料片を煮沸したときの上澄み液の色を示し、「上澄み液煮沸後1」は二クロム酸カリウムを加え、煮沸した後の上澄み液の色を、「上澄み液煮沸後2」はチオバルビツール酸を加え、煮沸した後の上澄み液の色を示している。実験に使用した試料すべてでチオバルビツール酸法による呈色が見られ、原材料表示通りソルビン酸が含まれていることが確認された。ソーセージ・かまぼこは、ハムに比べ橙色に近い色相となり、かまぼこは他の2つの試料に比べ薄い赤色を呈した。

実験 2

ソルビン酸の含有量を変えたソーセージの作成・観察

作成したソーセージを冷蔵庫に保存し、毎日観察・デジタルカメラによる撮影を行った結果、実験開始日(2009年11月13日)から52日目でソルビン酸を含まない0倍ソーセージが腐敗した(異臭を放ち始めた)。実験開始日から122日目で基準値の1/4倍のソルビン酸を含むソーセージのラップ部分にのみカビと見られる物質が出現した。ソルビン酸含有量1/2, 1, 2倍のものは観察期間内では目立った変化は見られなかった。

実験 3

実験 2 で得た肉汁の呈色実験

表 3 に呈色した肉汁の色相の詳細を、図 5 には呈色した肉汁の写真を示す。

表 3. ソルビン酸濃度別の呈色の様子

対象となる溶液の濃度	反応後の様子
1	実験 1 の呈色実験のハム、かまぼこよりも薄い赤色を呈した。
1/10	1 倍の溶液よりも薄い赤色を呈した。
1/100	1 倍, 1/10 倍の溶液よりも薄く、桃色がかった赤色を呈した。
1/1000	ごく薄い反応し、赤みを帯びた。

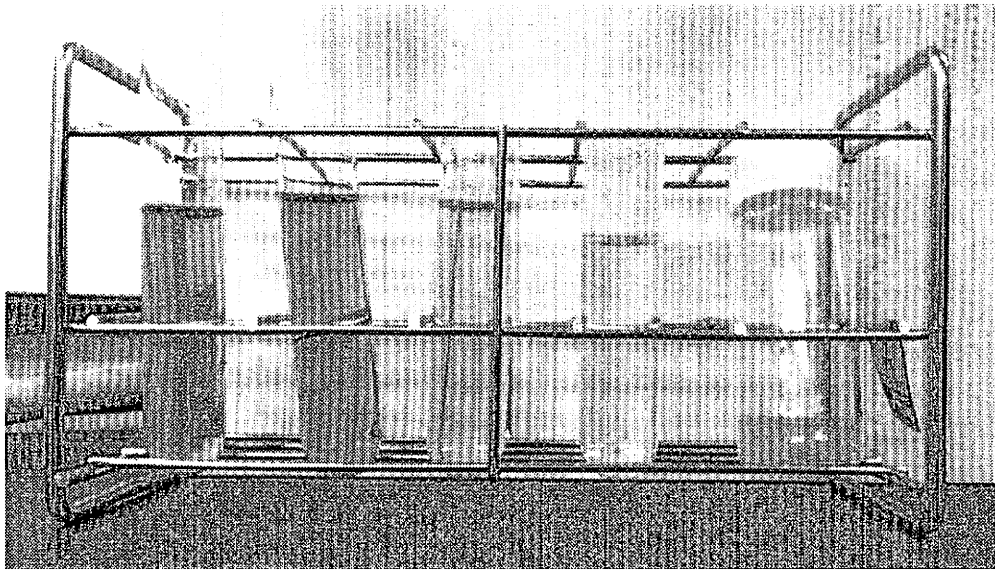


図 5. 濃度別ソルビン酸入り肉汁の呈色実験の写真

左側から 1, 1/10, 1/100, 1/1000 倍の濃度順に並べてある。右端の瓶中の液体が原液である。対象となった溶液すべてで、チオバルビツール酸法による赤色呈色が見られた。濃度が濃くなるにつれ、呈色する赤の明度が濃くなっていることがわかる。

実験 4-1

濃度を変えたソルビン酸水溶液の呈色・吸光度測定実験 A

濃度を変えたソルビン酸溶液を呈色したところ、目に見えてわかる色の差はなかったが(図 9), 吸光度計で溶液 A, B, C, D, E, F のスペクトラムを測定したところ, すべての溶液が波長 530 nm 前後で最大吸光度を示し, その値に差がでた。それぞれの最大吸光度を示したものは, 図 7 である。試料の中で最大吸光度が最も高かったのは溶液 A(2.0%)である。2 番目に最大吸光度の高かったものは一番ソルビン酸濃度の小さかった溶液 F(0.01%)で, 続いて溶液 B(1.0%), D(0.040%), E(0.020%), C(0.080%)となった。

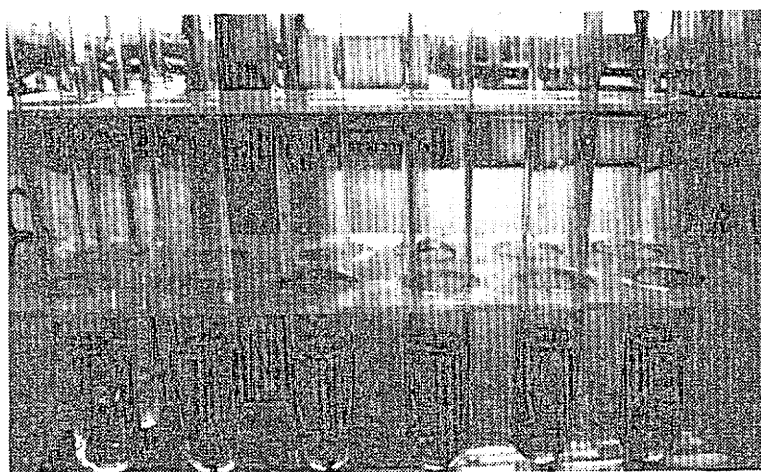


図 6. 吸光度測定実験 A での呈色の写真

右から A, B, C, D, E, F の順に並べてある。

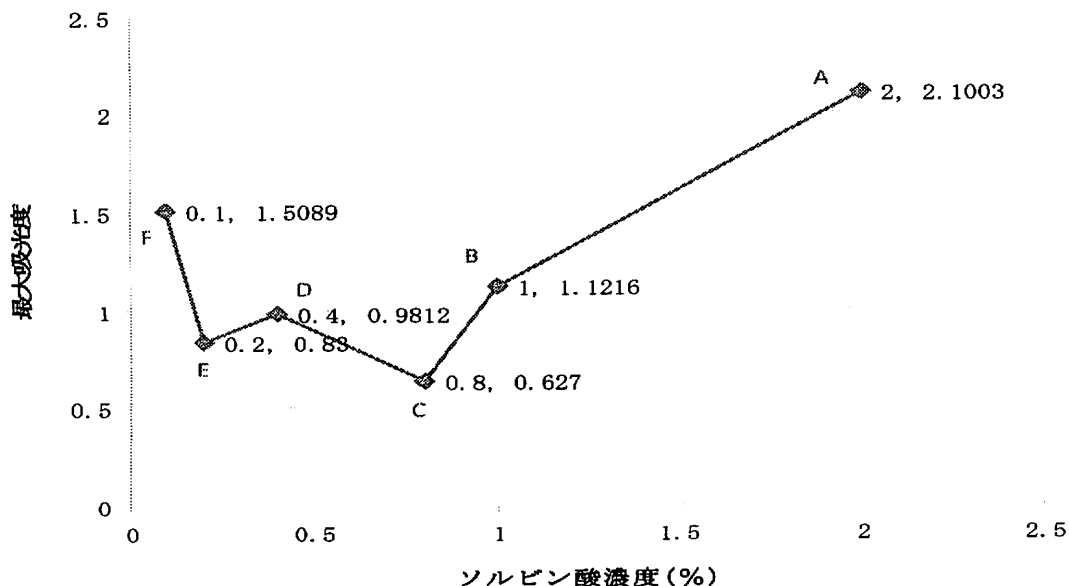


図 7. 吸光度測定実験 A での最大吸光度グラフ

実験 4-2

濃度を変えたソルビン酸水溶液の呈色・吸光度測定実験 B

図 8 にソルビン酸濃度別の吸光度を、図 9 にはそれぞれの最大吸光度を示す。

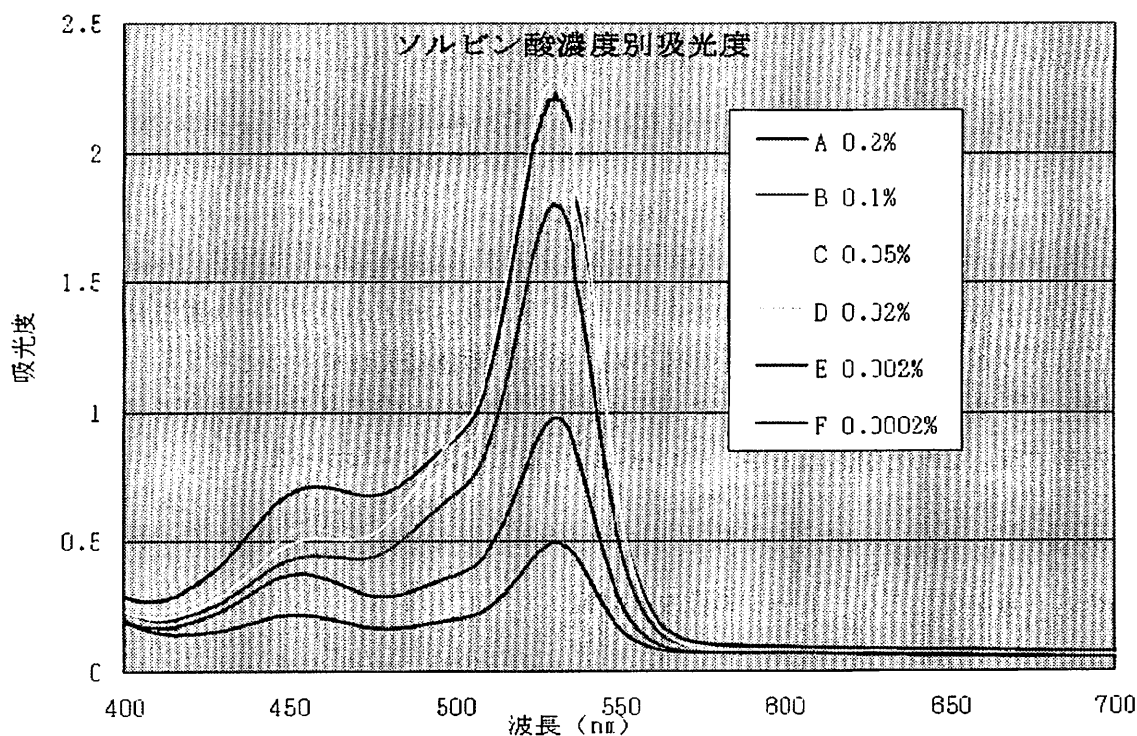


図 8. 吸光度測定実験 B での各濃度別スペクトラムのグラフ

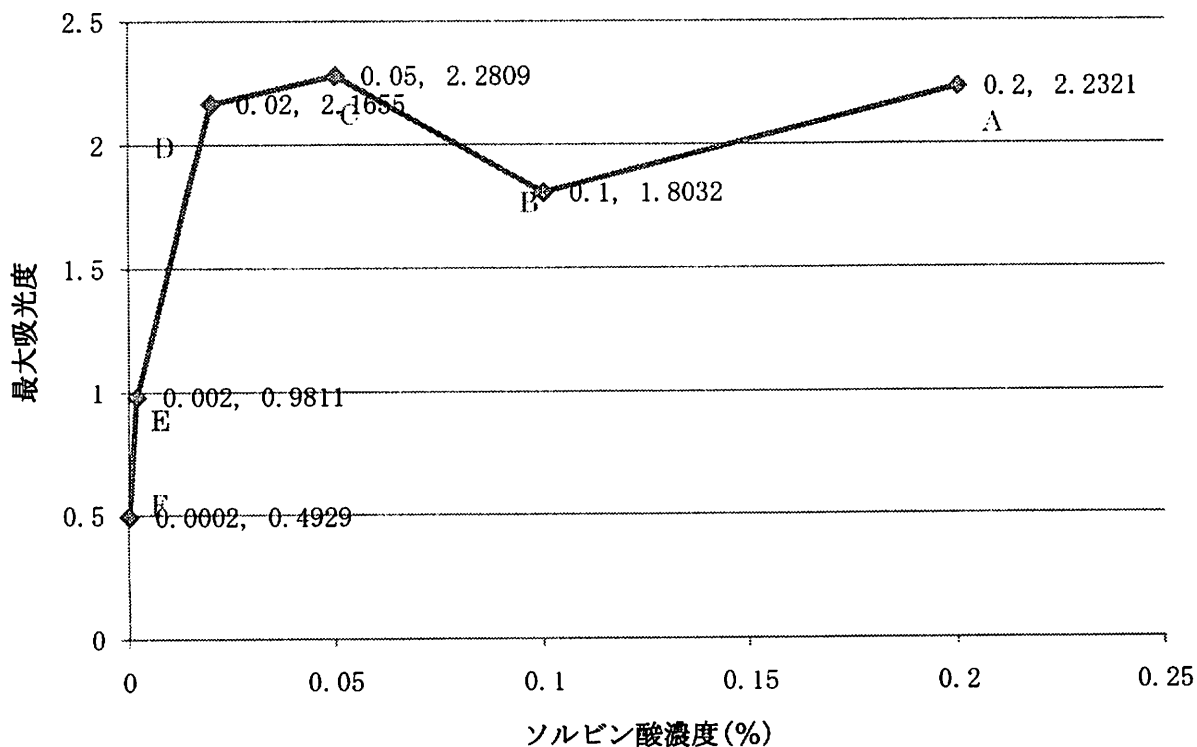


図 9. 吸光度測定実験 B での最大吸光度グラフ

試料中で最大吸光度が最も高かったのは溶液 C で、ついで溶液 A, D, B, E, F となった。溶液

A, C, D の最大吸光度はほぼ横ばいであり、溶液 B は予想よりもかなり低い数値となった。溶液 E, F(ソルビン酸濃度 0.0002~0.002 %)の間では、ほぼ予想通りの比例の形となった。

4. 考察

実験 1

ソルビン酸入りハム・ソーセージ・かまぼこの呈色実験

使用する試料によって呈色の色相に多少の差が出たことから、チオバルビツール酸法によるソルビン酸の呈色には、ソルビン酸の濃度やその他原材料の影響が敏感に表れていると考えられる。ソーセージ・かまぼこに黄色の発色が見られたのは、チオバルビツール酸がハム・かまぼこに含まれている他の添加物に反応したと思われるが、それを特定することはできなかった。

実験 2

ソルビン酸の含有量を変えたソーセージの作成・観察

全体的に市販のものよりもかなり腐敗が遅く、ソルビン酸含有量が基準値の 1/2, 1, 2 倍のものでは実験期間中にははっきりとしたデータを得ることはできなかった。しかし、試料を食べて確認したわけではないので、実際には人が認識できないレベルで腐敗が起こっていた可能性も考えられる。また、基準値の 1/4 倍のソルビン酸しか含有していないソーセージでも、ソルビン酸を含まないソーセージよりかなり長い期間腐敗しなかったことから、使用限量より少ない量でも防腐効果ははっきりと見られることが分かる。今回の実験では時間や場所の都合で市販のソーセージを同じ環境下で腐敗させる実験を行えなかったため、比較実験はできなかったが、行っていたらさらにはっきりとした結果が導き出せたであろう。ソルビン酸含有量 0 倍のソーセージが予想以上に長く腐敗しなかった原因としては、ソーセージの保存環境を一般家庭用での冷蔵庫保存として実験を行ったこと、ソーセージの材料に、一般に防腐効果があるとされているニンニクを使用したことなどが考えられる。ニンニクを使用しないものや、常温での保存の場合などについても実験するべきであった。

実験 3

実権 2 で得た肉汁の呈色実験

予想通り、ソルビン酸濃度によって呈色に大きな差が出た。このことによって、チオバルビツール酸法によるソルビン酸含有量を定量する指標が作れるのではないかと考えられる。しかし、この実験では濃度差を大きくしていたので、実際にどの程度の濃度差まで測れるのかどうかは明らかにできなかった。

実験 4

濃度を変えたソルビン酸水溶液の呈色・吸光度測定実験 A, B

実験 1 では、予想通り溶液 A の最大吸光度が最大であった。実験 B では、溶液 D, E, F の濃度差を実験 A に比べて大きくしたため、見た目で見えるほどの色の差が表れ、理想的なグラフになったといえる。

しかし、実験 A, B ともに、それぞれの溶液の最大吸光度はソルビン酸の濃度に比例するという予想に反して、結果はばらばらな値になった。ばらつきの原因として、吸光度計の精度の問題が考えられる。実験が終了してから、吸光度は 1 を超えると最大吸光度が濃度に比例しないということが分かった。私たちが吸光度を測定する際、試料をそれぞれ 3 倍に薄めてから計測しているが、それは原液で測定を行ったときに最大吸光度が大きすぎて測定限界を超えたためである。そして、3 倍に薄めた場合でも最大吸光度の値が 1 を超えているものが大半だったことから、吸光度計の最も正確な値が出る範囲を超えていたことが分かる。

また、二クロム酸カリウム添加量の過不足も考えられる。私たちは、チオバルビツール酸法による呈色実験の際、0.05 % の二クロム酸カリウム水溶液を試料のソルビン酸濃度に関係なく 0.2 ml ずつ使用した。そのため、低濃度のソルビン酸溶液では、ソルビン酸に対して二クロム酸カリウム水溶液が多すぎたためにのこり、逆に高濃度のソルビン酸溶液では不足していたため十分に酸化反応ができなかったのだと考えられる。

実験 2 の図 9 の溶液 A, C, D の最大吸光度の値がほぼ横ばいになっているが、これは吸光度計の測定値が高すぎることで、または二クロム酸カリウムの不足によるものと考えられる。

さらに、試験管の加熱時間のばらつきも影響を与えた可能性がある。私たちは二クロム酸カリウム水溶液を加えた後の試料の煮沸時間と、チオバルビツール酸を加えた後の試料の煮沸時間の両方を測定せず、試料が完全に反応したと目で確認するだけだった。そのため、中にはまだ反応が不完全で本来の呈色に達していないものもあったかもしれない。

その他、両方の実験に共通して言える原因は、器具の操作の不手際による試料濃度の変化で、特に実験 1 に関しては駒込ピペットを使用するなど厳密性にかけていた。実験 2 では、実験 1 で使用していた駒込ピペットをメスピペットに変更することにより誤差は改善されたと言えるが、やはり多少のずれは生じているものと考えられる。

この実験結果は A, B ともに私たちの予想から大きくはずれており、実験は成功したとは言えない。しかし、厳密性を考慮し、実験 1 に比べ濃度を小さく、濃度差をかなり大きくした実験 2 の溶液 E, F の値は、濃度差に比例しているように見える。したがって濃度が大きい溶液に関しても測定精度をあげることで理想の形に近づくのではないかと考えている。さらに、チオバルビツール酸による呈色の色差の精密度には限界があるとしても、その付近において最大吸光度は今回の結果のように不規則に上下せず、ほぼ変化しない値になるのではないかと考えた。

5. 結論

今回の研究は、研究対象を食品添加物のなかでもソルビン酸に絞り、日常で消費されるソルビン酸入り加工食品に含まれるべき適切なソルビン酸の含有量を決定し実際に作成すること、ソルビン酸の呈色実験を利用してソルビン酸の含有量を調べるための指標を作成することを目的とした実験を行った。

加工食品の適切なソルビン酸含有量は決定できなかったが、自作ソーセージの観察によってソルビン酸を少量でも含んだソーセージはソルビン酸を含有していないソーセージに比べてもはるかに腐敗しにくく、長持ちすることがわかり、ソルビン酸の強力な防腐効果が確認された。今後食品の安

全性を考えると、様々な保存環境下で同様の実験を行うことで、ソルビン酸含有量を減らし、より適切な含有量の値を導けるのではないかと考えられる。

また、チオバルビツール酸法の呈色による指標の作成では、少なくとも溶液 E, F(0.0002~0.002 %)の最大吸光度の値のグラフは私たちの予想通り低濃度については比例関係を示したので、今後は溶液 E, F 程度の低濃度における吸光実験をさらに細かく行うことで、正確な濃度測定の指標が作成できると思われる。

今回の研究全体での反省点は、時間配分の偏りと知識の不足である。具体的な最終目標は決定していたものの、実験方法などを詳しく決めていなかったために実験が難航することもあり、限られた時間の中での研究だったために十分な知識をつけることができないまま実験に臨んでしまった。実験手順や結果を細かく書き残すことや、実験器具の使用法についての予備知識をつけておくなど、基本的なことでも不手際があり、実験内容を一から考え、すべて自分たちで考えることの難しさを知る良い機会となった。

6. 参考文献

ウィキペディア

<http://ja.wikipedia.org/wiki/%E3%82%BD%E3%83%AB%E3%83%93%E3%83%B3%E9%85%B8>

財団法人 日本食品化学研究振興財団 厚生労働省行政情報 添加物使用基準リスト

<http://www.ffcr.or.jp/>

食品添加物の実験

<http://www.takasaki.ed.jp/ssh/research/report/h19report-research-4.pdf>

Kotobank.jp

<http://kotobank.jp/>

フナコシ試薬ニュース 2007年1月1日, 15日合併号

http://www.funakoshi.co.jp/news/070100spdf/070100s_p22.pdf

吸光光度計の原理

http://homepage2.nifty.com/kirislab/chap9_sum/preemieAQV/spectrometer.html

分光光度計を使ったタンパク質定量の測定原理と実際

http://www.med.gifu-u.ac.jp/cell_signal/page_610.html

7. 謝辞

本研究では一年間を通して細かなご指導をいただいた本校教諭の筒井啓行先生に大いなる感謝を申し上げます。また、サイエンス探究の化学分野の本校教諭の福野勝久先生からは的確な厳しいお言葉を賜りました。ここに感謝の意を表します。

銅イオンの還元を利用した色ガラスの作成

勝本匡博 小西保彰 長宮大輝

1. 緒言

我々の身の回りのあらゆるところにガラスは存在する。窓ガラス、鏡、レンズ、食器等々、その用途は枚挙に暇がない。我々は様々な分野で利用されるガラスに興味を抱き、ガラスについての研究を始めることにした。

ガラスとは、ガラス状態—液体状態を凍結したような状態で、準安定状態（もっとも安定な状態以外にも、エネルギー的に安定な状態は存在し、そのような状態）—になるケイ酸化合物のことである。我々の研究では、短時間の加熱で作成可能であり、透明度の高い美しいガラスが得られるということから、鉛を含んだガラスを選択し、様々な着色を試みてきた。

一般的な着色方法は、様々な金属塩をガラスに添加することで、その金属イオンがガラスに色を与えることを利用するものである。それを参考に我々は Fe_2O_3 や CuSO_4 , MnO_2 等々を添加したガラスを作成していた。ところが、 CuSO_4 を加えたガラスと Cu_2O を加えたガラスでは色が異なることを発見し、我々はイオン価数を変化させることによって異なる発色が得られるのではないかと予想した。その後、我々はそれを研究の指針とし、 Cu^{2+} や Cu^+ を含むガラスに還元剤を加えることで様々な色の発色を目指した。つまり、銅イオンを還元することで、ガラスの色相をコントロールすることを目指したのである。

我々は、行った実験と「銅赤ガラスの発色過程に関する研究」¹⁾ を参考にしてガラス内での銅に関する反応を考えた。その反応は、『還元剤を添加することで、銅イオンが還元され、銅原子となると、原子間引力による凝集が起こり、銅コロイドとなる。さらに凝集が進むと金属銅として析出する。』というものである。そのプロセスをモデル図で表したものが Fig.1 である。

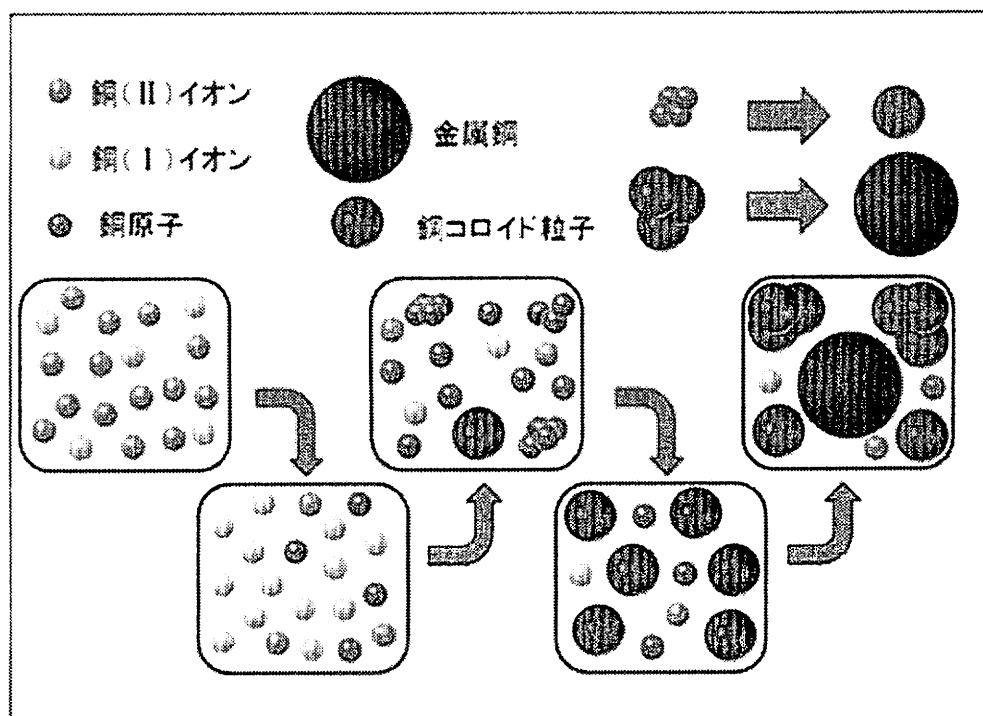


Fig.1 ガラス内での銅に関する反応のモデル図

2. 実験手順

◆実験 I

まず、二酸化ケイ素（キシダ化学，1 級）1.50 g，四ホウ酸ナトリウム十水和物（キシダ化学，1 級）8.00 g，酸化鉛（II）（キシダ化学，1 級）7.00 g を乳鉢に入れてよく混ぜ合わせる。その後、混合物を蒸発皿に移し替え、マッフル内に設置し、ガスバーナーの強火で 20 分間加熱する。このとき、マッフルの底部とガスバーナーの先端との距離は約 7 cm である。加熱後、熔融させたガラスを銅板上に流し出す。この際、熱衝撃を緩和するために、使用していたマッフルをガラスを覆うようにかぶせる。出来上がったガラスは汎用の分光光度計（島津製作所，UVmini-1240）を用いて吸収スペクトルを測定する。吸収スペクトルは波長 400 nm～700 nm で、空気をベースラインにとって測定する。ノギスで厚さを測定すると、どの試料も厚さは 4.5mm～4.55mm の間でほぼ変わらなかったため、吸光度の補正は行っていない。

◆実験 II

実験 I の試薬に硫酸銅（II）五水和物（キシダ化学，1 級）0.05 g を加え、実験 I と同様の操作を行う。

◆実験 III

実験 II で得られたガラスを再度マッフル内で熔融させ、還元剤として炭素 0.20 g を加熱開始後 10 分おきに複数回添加する。最後の添加後、10 分間加熱した後に銅板上に流し出し、以後実験 I と同様の操作を行う。

◆実験 IV

実験 II の試薬に炭素 0.20～0.40 g を予め加え、実験 I と同様の操作を行う。

◆実験 V

実験 I の試薬に酸化銅（I）（キシダ化学，純度 90 %以上）0.05 g，炭素もしくは酸化スズ（II）（キシダ化学，純度 85 %以上）0.03 g，0.06 g，0.09 g を加え、実験 I と同様の操作を行う。

◆実験 VI

実験 I の試薬に酸化銅（I）0.05 g，酸化スズ（II）0.09 g を加え、よく混ぜ合わせる。その後、混合物を蒸発皿に移し替え、マッフル内に設置し、ガスバーナーの強火で 20 分間加熱する。このとき、マッフルの底部とガスバーナーの先端との距離は実験 I と同様である。加熱後、熔融させたガラスを水中に流し出す。その後、水中から取り出したガラスの水分を蒸発させ、ある程度大きさが同じになるようにガラスを砕く。出来たガラス屑 10.0 g，酸化スズ（II）0～0.03 g の混合物を蒸発皿に入れ、マッフル内に設置し、ガスバーナーの強火で 15 分間加熱する。このとき、マッフルの底部とガスバーナーの先端との距離は実験 I と同様である。加熱後、熔融させたガラスを銅板上に流し出す。この際、熱衝撃を緩和するために、使用していたマッフルをガラスを覆うようにかぶせる。

◆実験 VII

実験 I の試薬に、酸化銅（I）、酸化スズ（II）を Table1 の通りに加え、実験 I と同様の操作を行った。

Table1 酸化銅（I）と酸化スズ（II）の添加量（g）

No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Cu ₂ O(g)	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.01	0.01	0.01	0.01
SnO(g)	0.02	0.03	0.04	0.05	0.06	0.01	0.02	0.03	0.04

◆実験Ⅶ

実験Ⅶの Table1 の No.3 のガラスと同じ試薬を蒸発皿に入れ、マッフル内に設置し、ガスバーナーの強火で 20 分間加熱する。このとき、マッフルの底部とガスバーナーの先端との距離は実験Ⅰと同様である。加熱後、熔融させたガラスを水中に流し出す。その後、水中から取り出したガラスから水分を取り除き、ある程度大きさが同じになるようにガラスを砕く。出来たガラス屑 10.0 g を蒸発皿に入れ、マッフル内に設置し、ガスバーナーの強火で 15 分間加熱する。このとき、マッフルの底部とガスバーナーの先端との距離は実験Ⅰと同様である。加熱後、熔融させたガラスを銅板上に流し出す。この際、熱衝撃を緩和するために、使用していたマッフルをガラスを覆うようにかぶせる。さらに、出来上がったガラスは十分に冷ました後に、汎用の卓上小型電気炉（日陶化学株式会社, NHK-170 型）で再加熱する。その際のプログラムは、Fig.2 のように設定した。

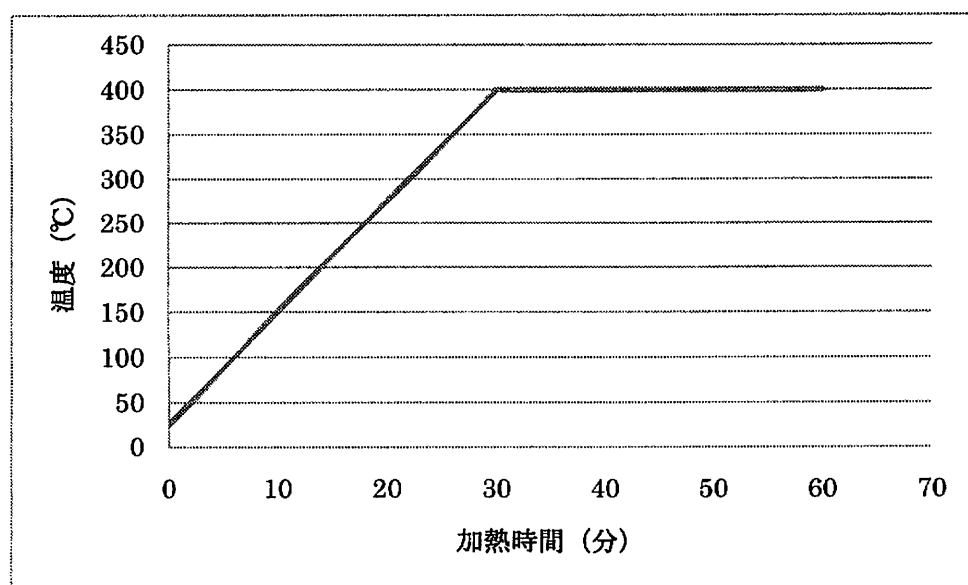


Fig.2 電気炉内の温度と時間の関係

◆実験Ⅸ

実験Ⅶで用いたガラス屑と、同様にして作った無色透明ガラスのガラス屑を、質量比で 1:3, 1:9 のいずれかの割合で混合し、実験Ⅶと同様の操作を行った。また、実験Ⅰで得られた無色透明のガラス、及び、実験Ⅰの試薬に酸化スズ(Ⅱ)を加えて得られたガラスにも再加熱を行った。

◆実験Ⅹ

実験Ⅰの試薬に硫酸銅(Ⅱ)五水和物 0.05 g, 酸化スズ(Ⅱ) 0~0.06 g を加え、実験Ⅰと同様の操作を行う。

なお、実験Ⅵからマッフル内の温度を測るために Fig.3 のような装置を組み立て実験を行った。

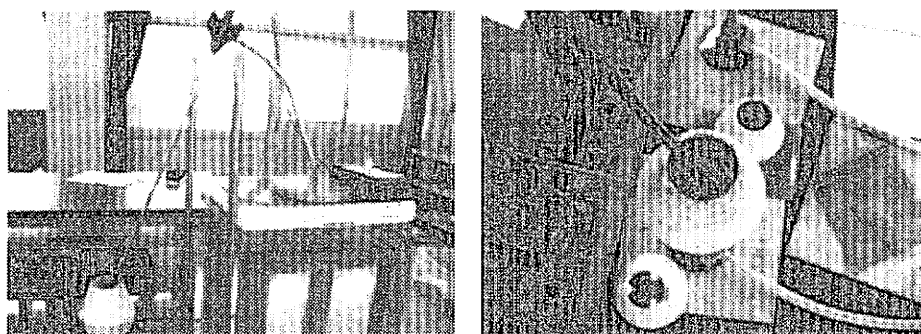


Fig.3

マッフル内の温度を定点ではかるための装置とその測定の様子

以下に、実験 I ～Ⅷまでの実験結果を記す。

◆実験 I

出来た無色透明のガラスとその吸収スペクトルは Fig.4 のようになった。

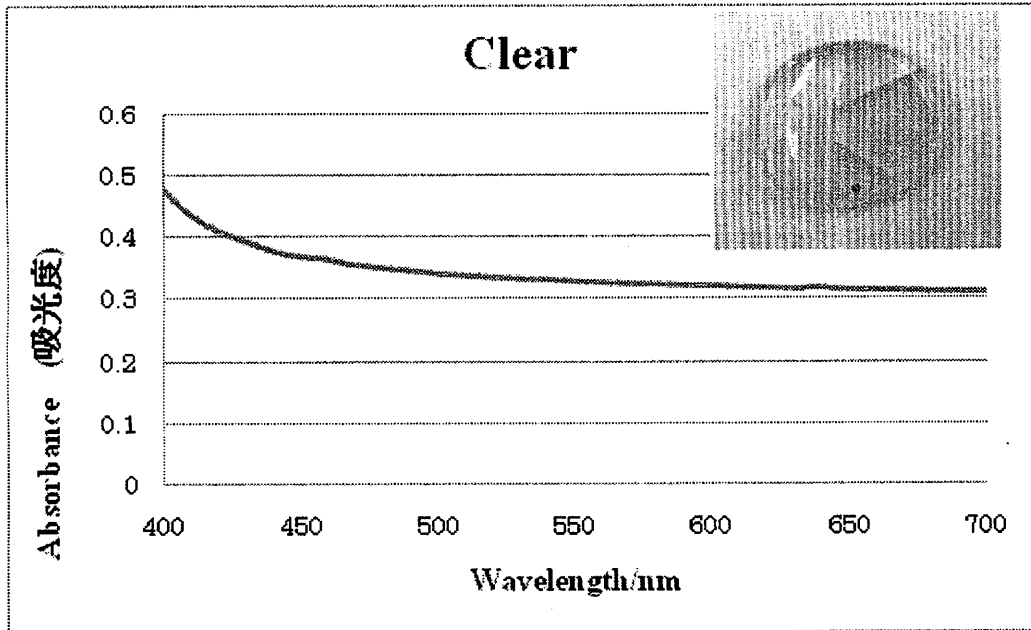


Fig.4 無色透明のガラスの吸収スペクトルとその実物の写真

Fig.4 の写真を見ると、無色透明のガラスであることが分かる。また、Fig.4 のグラフにおいて短波長側の吸光がわずかにあるが、概ね透明と言えるものである。

◆実験 II

出来た青色透明のガラスとその吸収スペクトルは Fig.5 のようになった。

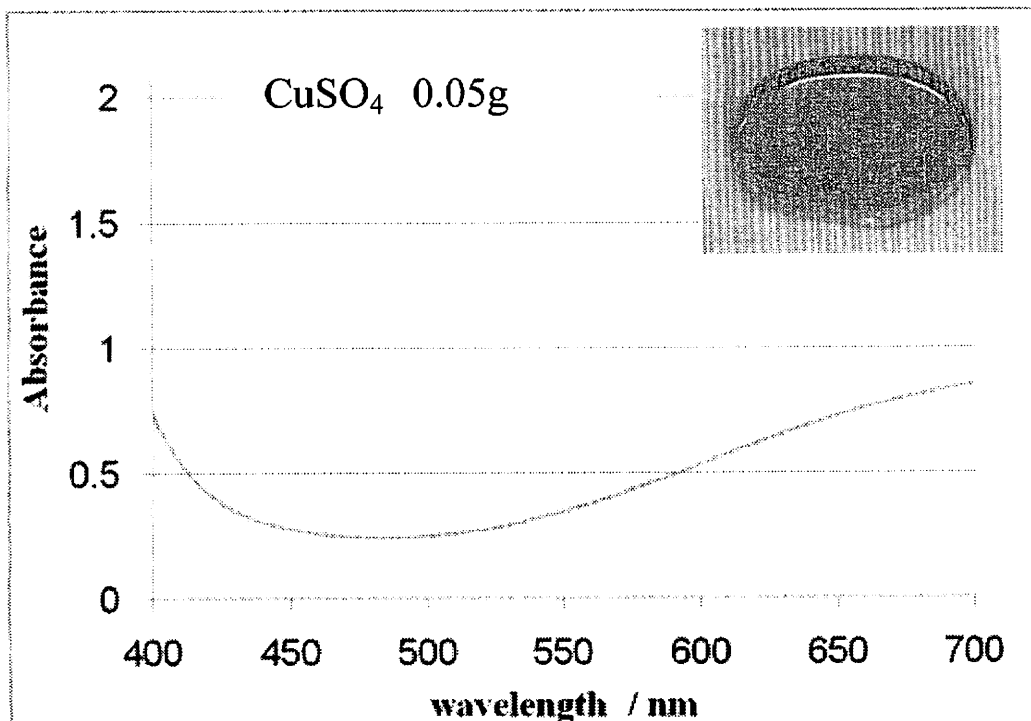


Fig.5 青色ガラスの吸収スペクトルとその実物の写真

Fig.5 の写真を見ると、青色透明のガラスであることが分かる。 Cu^{2+} は 2.0×10^{-4} mol と非常に微量であるにもかかわらず、十分に青色が認められている。また、 $\lambda=600\text{nm}$ 以上にブロードな吸収が認められた。Fig.5 のグラフを見ると、長波長側の吸光度が大きく、青色であることがわかる。

◆実験Ⅲ

炭素 0.20 g のガラスと炭素 0.40 g のガラスの写真およびその吸収スペクトルは Fig.6, Fig7 である。

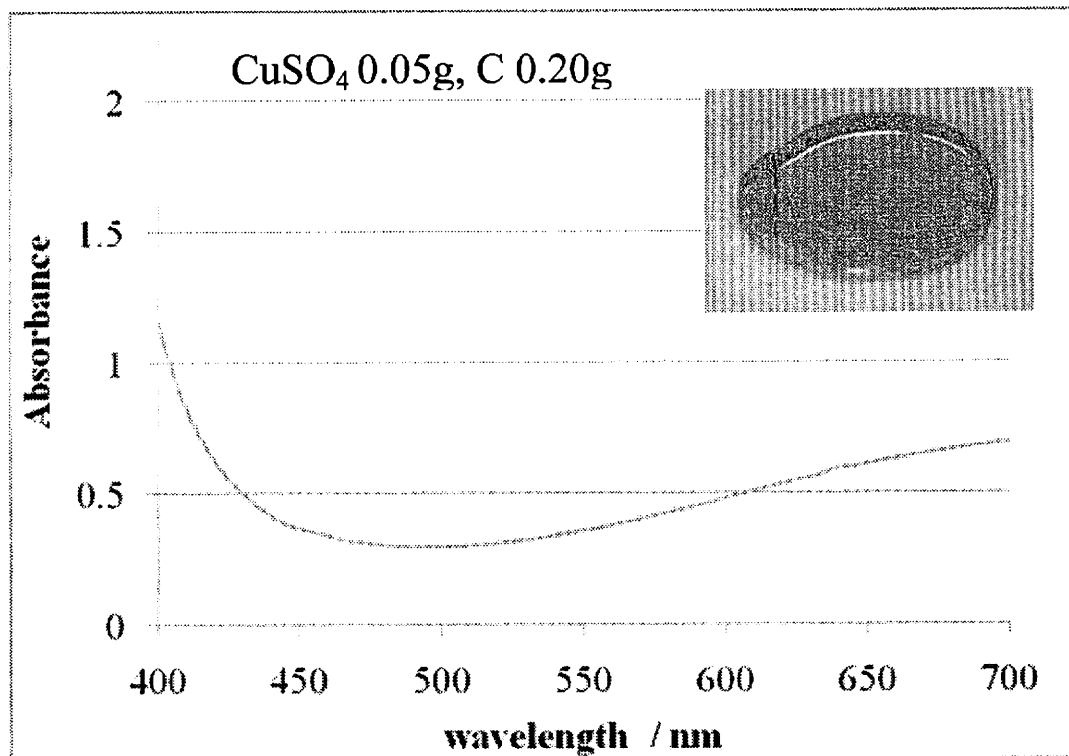


Fig.6 青緑色ガラス(炭素 0.20 g)の吸収スペクトルとその実物の写真

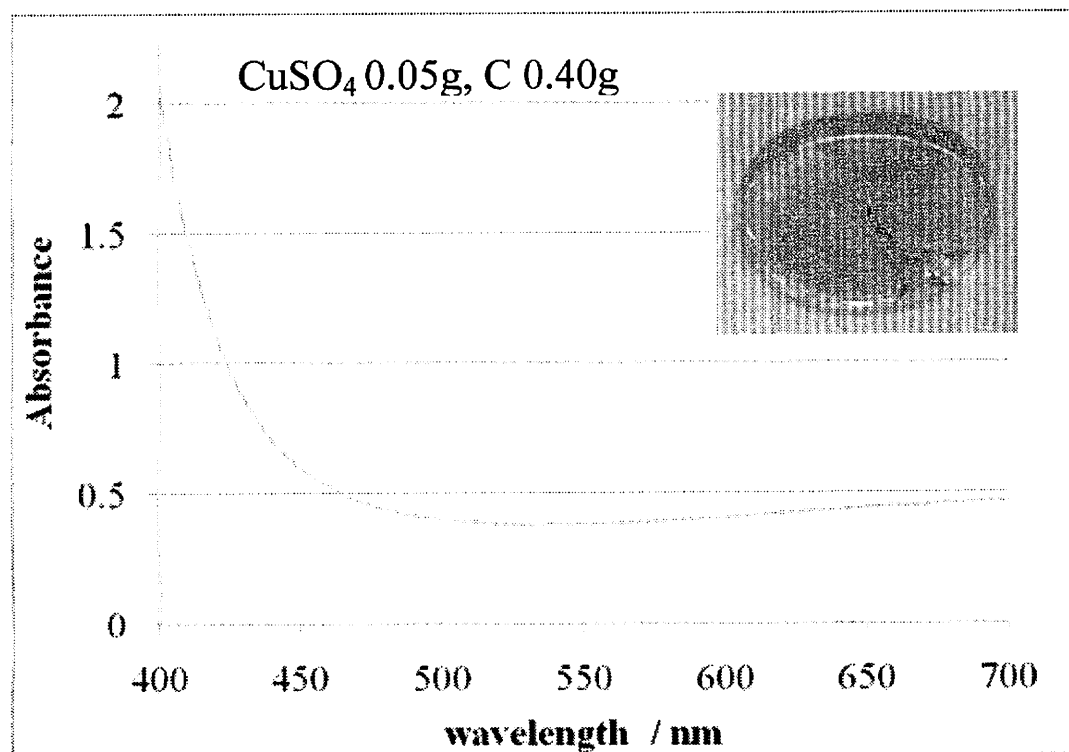


Fig.7 黄緑色ガラス(炭素 0.40 g)の吸収スペクトルとその実物の写真

Fig.6 の写真を見ると、青緑色透明のガラスであることが分かる。また、Fig.7 の写真を見ると、黄緑色透明のガラスであることが分かる。Fig.6 のグラフを見ると、 $\lambda=600\text{nm}$ 以上の吸光度は青よりも小さく、短波長側の吸光度は青よりも大きいことから、緑色に近い色であることがわかる。また、Fig.7 のグラフを見ると、さらにその傾向が顕著であることから、より黄色に近い色であることが分かる。

このことから、炭素添加量の増加に伴い、赤色の波長を吸収するものが減少し、青色の波長を吸収するものが増加していることがわかる。このことから、黄色は自然発生したものではなく、青色から炭素の還元作用によって変化してできたものと思われる。

◆実験Ⅳ

あらかじめ炭素を 0.20 g, 0.30 g, 0.40 g 添加したガラスで、写真はそれぞれ Fig.8, Fig.9, Fig.10 である。また、0.30 g は色の濃さのため、0.40 g のガラスは蒸発皿から取り出せなかったため、吸収スペクトルを測定することはできなかった。

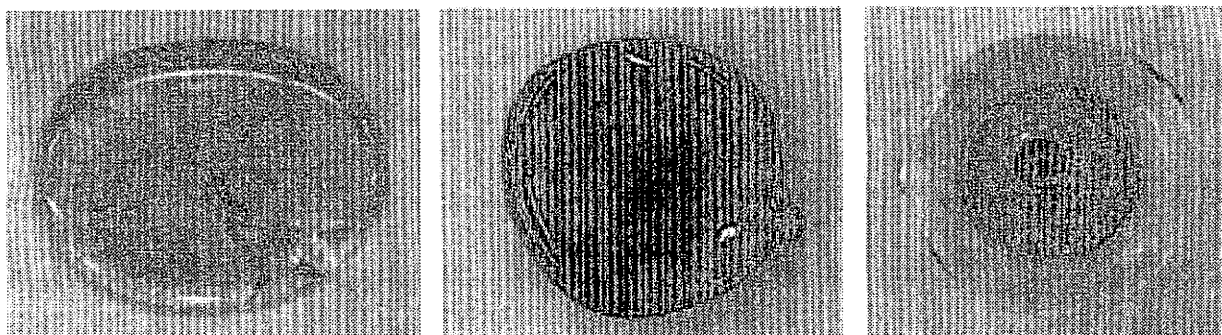


Fig.8 炭素 0.20 g

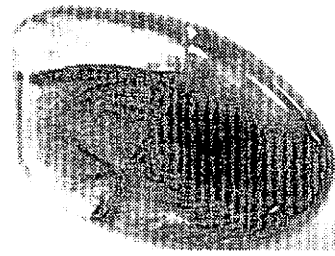
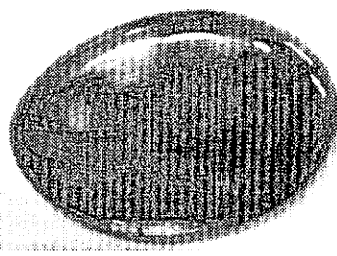

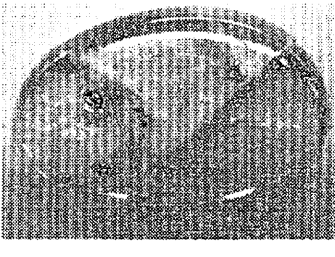
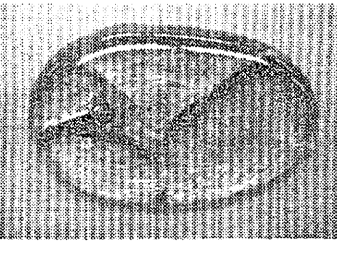
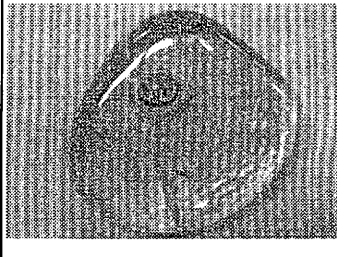
Fig.9 炭素 0.30g

Fig.10 炭素 0.40 g

予め炭素をいれることで、実験Ⅲとは異なる結果が出ていることがわかる。炭素0.20 g (Fig.8) では黄色の発色が見られる。また、炭素0.30 g (Fig.9) では暗褐色になってしまい、銅イオンの発色が見られないことが分かる。さらに炭素0.40 g (Fig.10) では、ガラスが透明になり、大きな銀白色の金属が析出しているのがわかる(中央)。これは定性分析の結果、鉛であることが確認された。

◆実験 V

できたガラスはFig.11~16の通りである。上側 (Fig.11~13) は酸化スズ (Ⅱ) を、
下側 (Fig.14~16) は炭素を加えたガラスである。

		還元剤の質量 (g)		
		0.03g	0.06g	0.09g
還元剤の種類	酸化スズ (Ⅱ)	 Fig.11	 Fig.12	 Fig.13
	炭素	 Fig.14	 Fig.15	 Fig.16

還元剤が違っても同じグラム数でもかなり異なる発色を示していることが分かる。酸化スズ (Ⅱ) を加えたガラスでは暗赤色がみられ (Fig.11~13)、炭素を加えたガラスでは左上に金属の析出が見られる (Fig.14~16)。この金属は実験Ⅳと同様に鉛である。

◆実験Ⅵ

Fig.17は水中に流し出したガラスの写真である。赤色発色は見られず、全体的に黄緑色のような色のガラス屑となっている。黄緑色になったのは、水中に流し出すことで銅の凝集よりも早くガラスのネットワーク構造が固定され、銅が移動できなくなったことによると考えられる。

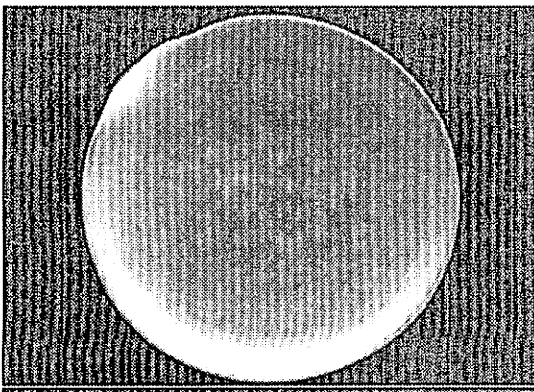


Fig.17 酸化銅 (Ⅰ) 0.05 g, 酸化スズ (Ⅱ) 0.09 g のガラスを水中に流し出したもののガラス

これをマッフル内で再加熱して得られたガラスは Fig.18~20 の通りである。実験 V で作成した酸化スズ (II) 0.09 g の水中に流し出していないガラス (Fig.21~24) と比べて、黒色 (光を透過すると赤色) の発色は安定していることが分かる。また, Fig.18~20 では, 金属銅の析出が顕著に見られる。

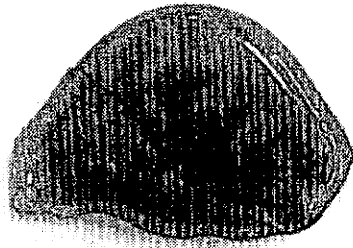


Fig.18

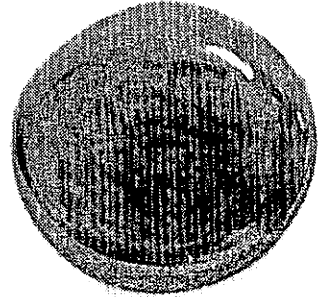


Fig.19

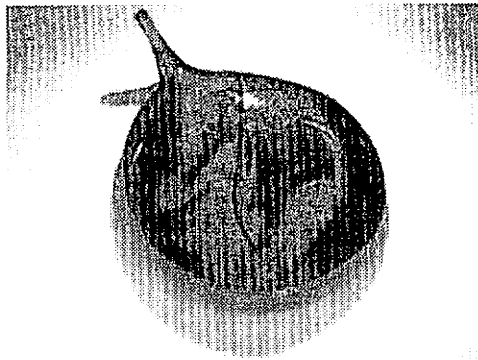


Fig.20

Fig.18~20 は水中に流し出し, その後, それを再加熱したガラス(実験 VI)

Fig.21~24 は水中に流し出していないガラス(実験 V の一部)

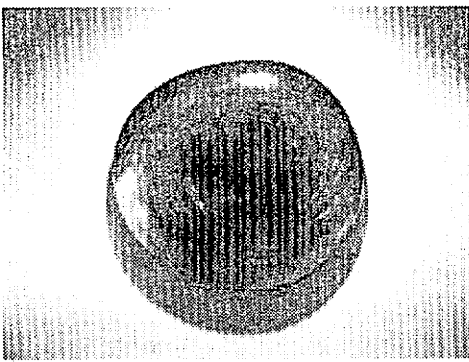


Fig.21

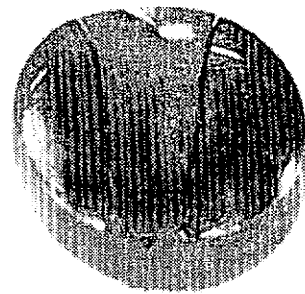


Fig.22

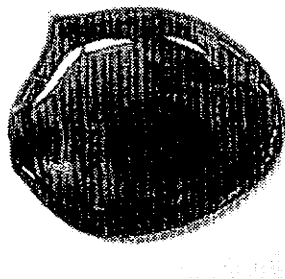


Fig.23

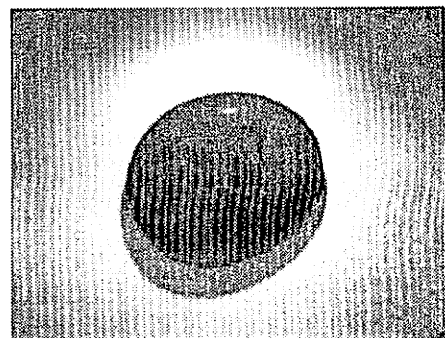


Fig.24

◆実験Ⅶ

No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Cu ₂ O(g)	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.01	0.01	0.01	0.01
SnO(g)	0.02	0.03	0.04	0.05	0.06	0.01	0.02	0.03	0.04

まず、酸化銅 (I) 0.02 g のガラスは Fig.25～29 である。

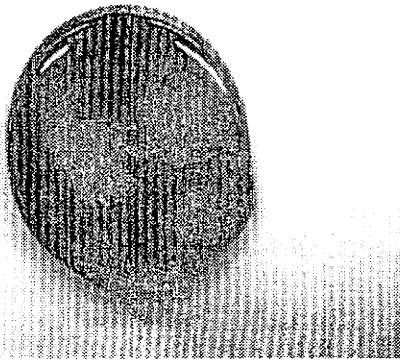


Fig.25 Table.1-No.1

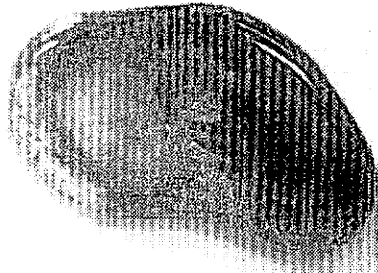


Fig.26 Table.1-No.2

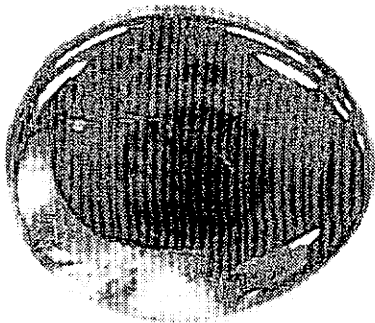


Fig.27 Table.1-No.3

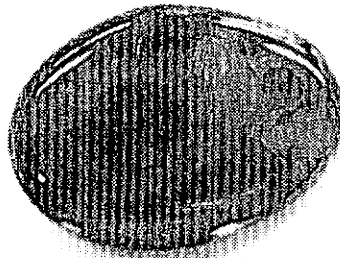


Fig.28 Table.1-No.4

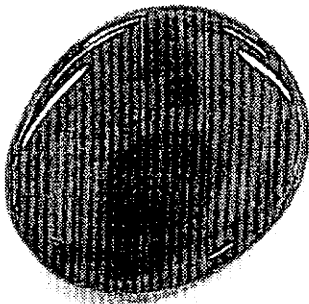


Fig.29 Table.1-No.5

Fig.25～29にかけて、赤褐色が濃すぎるので、酸化銅（I）が多いのではないかと思い、酸化銅（I）を0.01gに減らした結果が、Fig.30～33である。



Fig.30 Table.1-No.6



Fig.31 Table.1-No.7

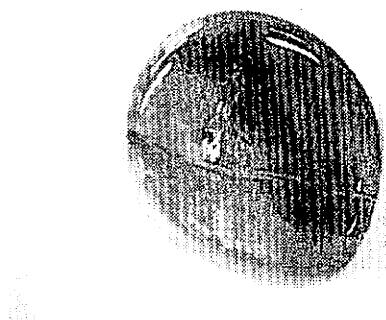


Fig.32 Table.1-No.8

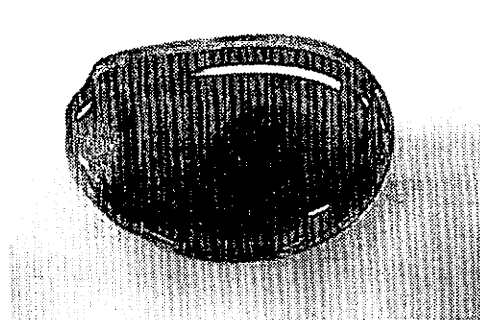


Fig.33 Table.1-No.9

Fig.32のように、電子天秤の測定限界の0.01 gの酸化銅（I）でさえ、濃い赤褐色のガラスが得られたが、全体としては、酸化銅（I）0.02 gの場合よりも少し薄めの発色となっている

◆実験Ⅷ

酸化銅（I）0.02 g、酸化スズ（II）0.04gのガラス屑をマッフル内で熔融させて、成型したガラスがFig.34～37である。全体的に黄色～黄緑色の発色が安定して得られている。また、Fig.36では黄色に赤い縞がはいったガラスとなっている。また、これらを電気炉で再加熱すると、Fig.34'～37'のように、黒さは残るものの均質な発色に近い赤色が比較的安定して得られている。Fig.36とFig.36'、Fig.37とFig.37'を見比べると、元々黄色に近いガラスのほうが赤色発色は得やすいと考えられるが、Fig.35とFig.35'のような場合もあり、一概には言えない。

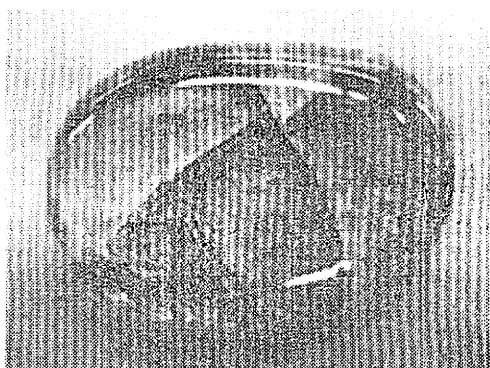


Fig.34

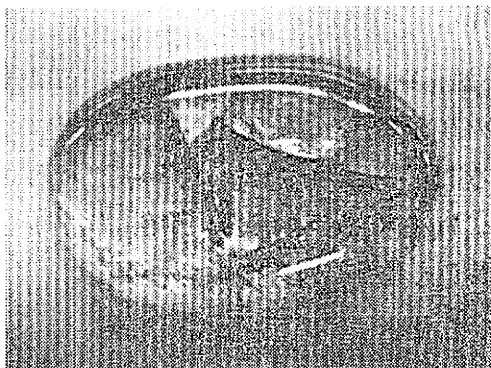


Fig.35

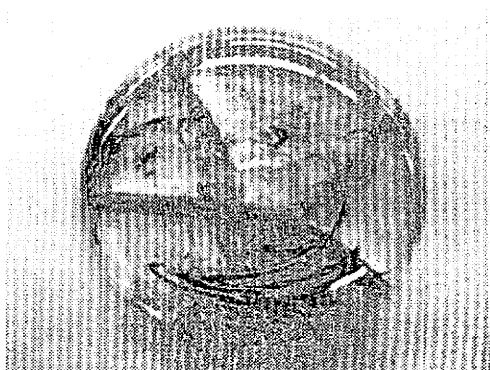


Fig.36

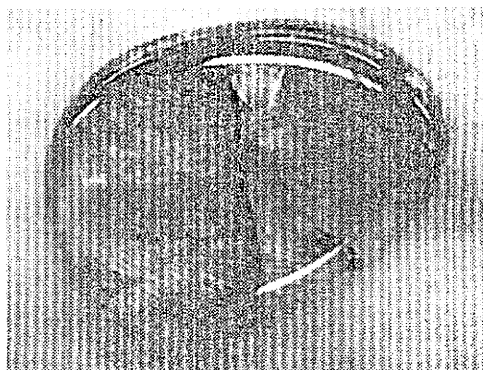


Fig.37

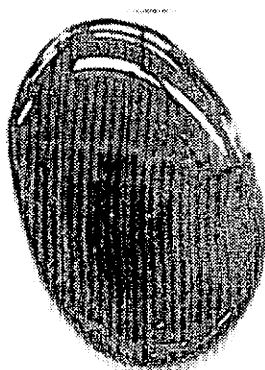


Fig.34'



Fig.35'

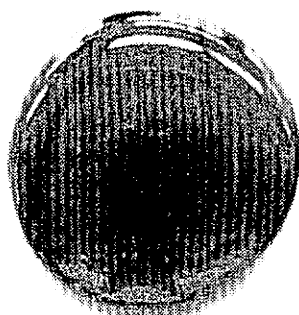


Fig.36'



Fig.37'

◆実験区

Fig.38は、酸化銅（Ⅰ）0.02 g、酸化スズ（Ⅱ）0.04gのガラス屑と基本組成のみの無色透明ガラスのガラス屑の写真である。質量比が『（黄緑色のガラス屑）：（無色のガラス屑）= 1:3 もしくは 1:9』となるように混合し（計10g）、マッフル内で熔融させ、成型したガラスがFig.39（1:3）、Fig.40（1:9）である。Fig.39のガラスは薄い黄色に薄い赤色が入ったガラスとなっているのに対し、Fig.40のガラスは暗黄色を呈している。

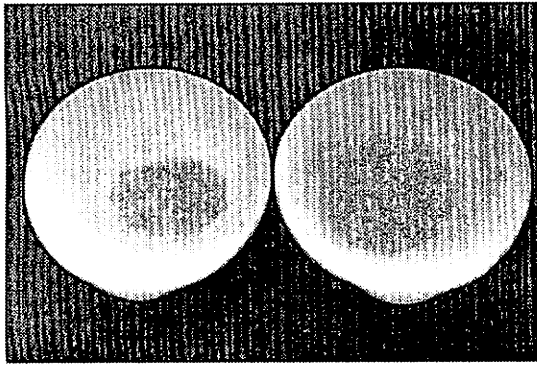


Fig.38

左は酸化銅（Ⅰ）0.02 g、酸化スズ（Ⅱ）0.04g のガラスのガラス屑

右は基本組成のみの無色透明ガラスのガラス屑

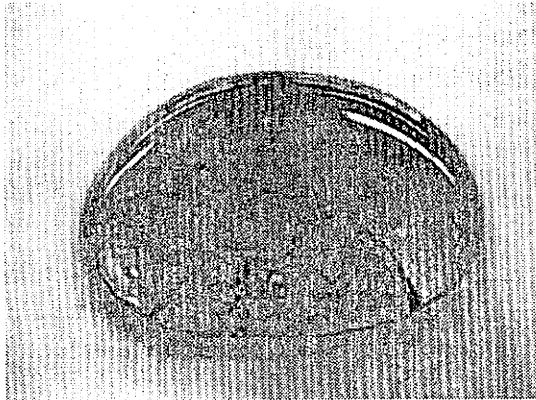


Fig.39

（黄緑色のガラス屑）：（無色のガラス屑）= 1:3

また、これらのガラスを再加熱することで得られたものがFig.39'、Fig.40'である。

再加熱前には明らかな違いがみられたが、再加熱後はどちらも黒くなった。Fig.39' のガラスの方が、Fig.40' のガラスよりも光の透過度はわずかに大きい。銅、酸化スズのいずれもが極端に少ないガラスであるにもかかわらず、黒色の発色はどちらもあまり変わらなかった。

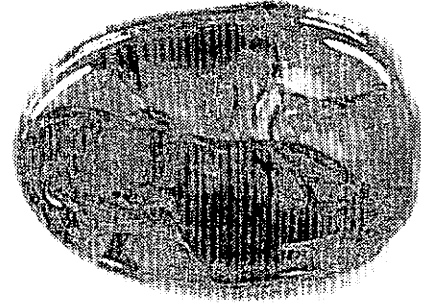


Fig.40

（黄緑色のガラス屑）：（無色のガラス屑）= 1:9

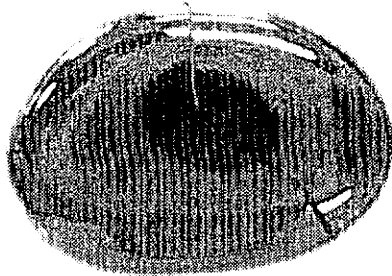


Fig.39'

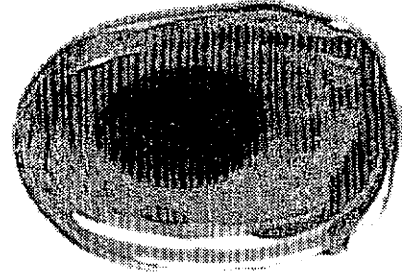


Fig.40'

黒色が何による発色であるかを調べるために、実験Ⅰで得られた無色透明のガラス、及び、実験Ⅰの試薬に酸化スズ（Ⅱ）を加えて得られたガラス（順にFig.41、Fig.42）にも再加熱を行った。

出来上がったガラスは順にFig.41', Fig.42'である。無色ガラスは薄い黒色 (Fig.41') になり、酸化スズ (Ⅱ) を添加したガラスは真っ黒 (Fig.42') になった。光を透過させると、薄いオレンジ色のように見えたが、銅赤ガラスのような暗めの赤色は観察されなかった。



Fig.41 無色透明ガラス



Fig.42 酸化スズ(Ⅱ)添加ガラス

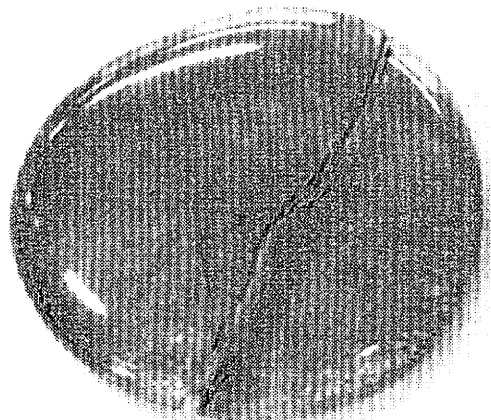


Fig.41' 無色透明ガラス(再加熱後)

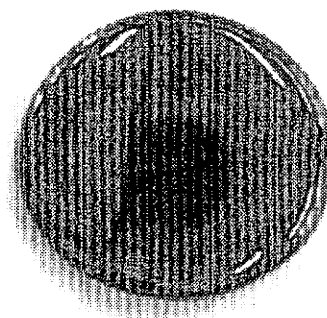


Fig.42' 酸化スズ(Ⅱ)添加ガラス(再加熱後)

◆実験 X

硫酸銅 (Ⅱ) ・五水和物0.05g, 酸化スズ (Ⅱ) 0~0.02gを加えたガラスが、順にFig. 43, 44, 45である。実験 I と同様に青色~黄色のガラスを得ることができたが、実験 I と比べて還元剤のロスが少ないことから、より再現性のある実験となっている。

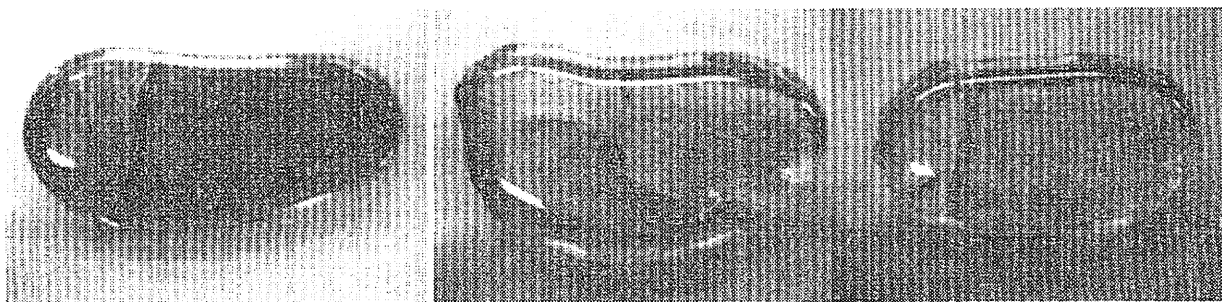
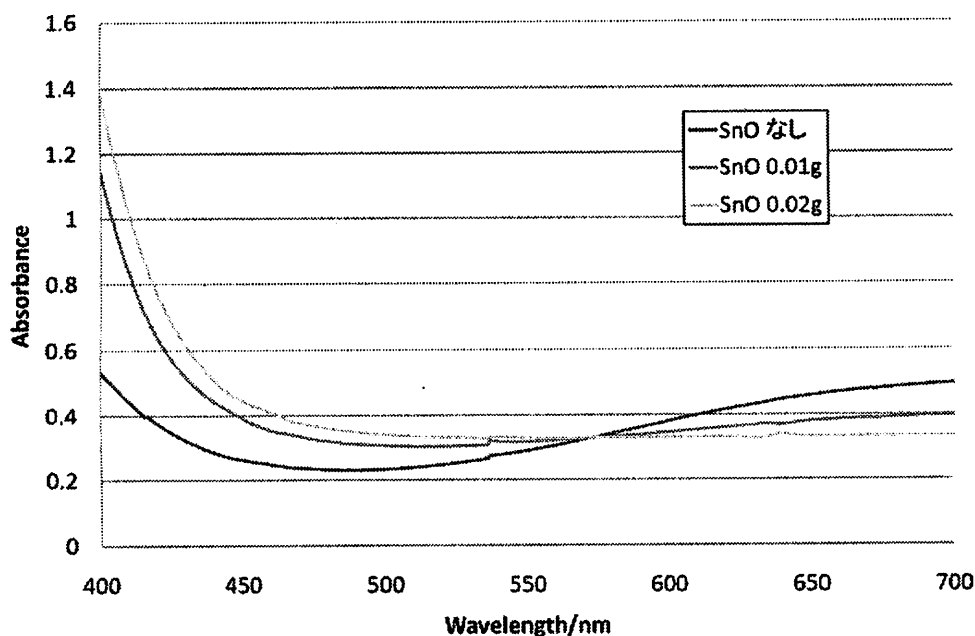


Fig.43 酸化スズ (Ⅱ) なし

Fig.44 酸化スズ (Ⅱ) 0.01g

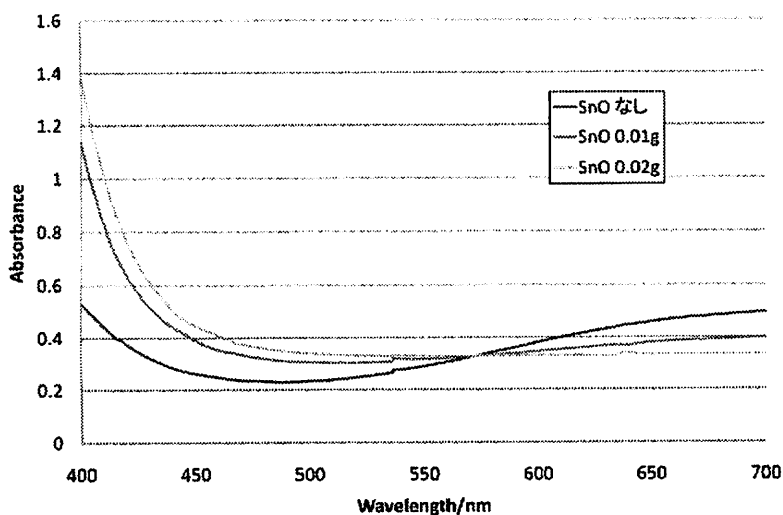
Fig.45 酸化スズ(Ⅱ)0.02g

また、これらのガラスの吸収スペクトルはFig.46であり、 $\lambda=570\text{ nm}$ 付近に等吸収点が見られ、酸化スズ(II)の添加量の増加に伴い、赤色の波長を吸収するものが減少し、青色の波長を吸収するものが増加していることが実験II, III同様に読み取れる。このことから、黄色は自然発生したものではなく、青色から炭素の還元作用によって変化してできたものと思われる。



4. 考察

◆青色～黄色のガラス



$\lambda=570\text{ nm}$ 付近に等吸収点が見られることから、 Cu^+ 、 Cu^{2+} のモル吸光係数が等しい波長はおよそ 570 nm であることが分かる。また、還元剤の添加量の増加に伴い、赤色の波長を吸収するものが減少し、青色の波長を吸収するものが増加していることが読み取れる。このことから、黄色は自然発生したものではなく、青色から還元剤の還元作用によって変化してできたものと思われる。このことから、還元剤を利用し銅(II)イオンを還元することで、緑色を含める青色から黄色までの色のガラスが作成可能であることが実証された。

◆赤色のガラス

実験Ⅶで、電気炉を使ってガラスのネットワーク構造を壊さない温度で加熱すると、暗赤色のガラスが得られることを確認した。しかし、実験Ⅸで、赤色発色は銅によるものであるのに対し、黒色発色は別の物質であることが分かった。また、再加熱後、透明ガラスでもわずかに黒色になったことや、酸化スズ(Ⅱ)を添加した無色透明ガラスが真っ黒になったことから、

① 酸化スズ(Ⅱ)が凝集した可能性はあるが、薄める実験では減っているの、それは考えにくい。

② Sn^{2+} が Pb^{2+} を還元している可能性はある。

③ PbO が不均化反応によって PbO_2 に変化している可能性もある。

ということが考えられるが、いずれの場合も未だ確証は持っていない。

5. 結論

還元剤を利用し銅イオンを還元することで、緑色を含める青色から黄色までの色、そして銅の凝集状態をコントロールすることで赤色のガラスが作成可能である。ただし、赤色ガラスでは黒色が強く、室内光で均質で鮮やかな赤色が見られるガラスは得られなかった。

今後の展望として、ガラスの黒色の原因の特定及びその対策を行うことで、より鮮やかな赤色が得られるものと考えられる。

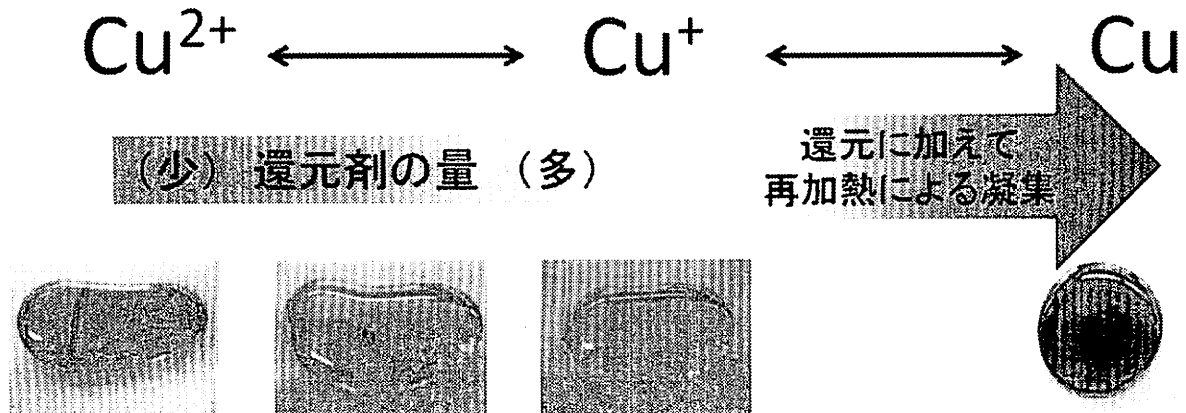


Fig.47 銅イオンの還元を利用した色ガラスの作成

6. 参考文献

- 1) T Sakaino, T. Moriya *J. Ceram. Assoc. Japan*, 69, 434(1961)

7. 謝辞

ご協力していただいた、福野先生をはじめとする大阪府立大手前高等学校化学科教員の皆様にご場を借りて厚く御礼申し上げます。

アナログ JK-FF の製作と性質

菅原悠馬 池田敦俊 亀山亮平

1. 緒言

1-1. 動機

現代社会はパソコン、携帯電話などの電子機器によって支えられているにもかかわらず、その内部構造について知る機会はほとんどない。電子機器はデジタル回路から成り立っているが、デジタル回路を構成する基本単位はトランジスタやダイオードなどのアナログ素子である。アナログ素子からどのようにしてデジタル回路が実現されているのかに興味を持った私達は、まず実際に簡単なデジタル回路を、アナログ素子を用いて製作することを目標として研究を開始した。

1-2. 論理ゲート

Fig.1,2,3 に入力 2 個の AND 回路、入力 3 個の AND 回路、NOT 回路の MIL 記号、Table 1,2,3 にその真理値表を示す。以降 0 は低電位を表し、1 は高電位を表す。

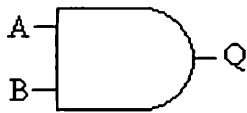


Fig.1 入力 2 個の AND 回路の MIL 記号

入力 A	入力 B	出力 Q
1	1	1
1	0	0
0	1	0
0	0	0

Table 1 入力 2 個の AND 回路の真理値表



Fig.2 入力 3 個の AND 回路の MIL 記号

入力 A	入力 B	入力 C	出力 Q
1	1	1	1
1	1	0	0
1	0	1	0
1	0	0	0
0	1	1	0
0	1	0	0
0	0	1	0
0	0	0	0

Table 2 入力 3 個の AND 回路の真理値表

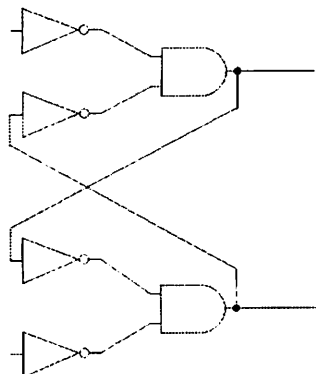


入力 A	出力 Q
1	0
0	1

Table 3 NOT 回路の真理値表

1-3.Flip Flop (フリップフロップ)

この研究では、RS-FF (RS-Flip Flop) と JK-FF (JK-Flip Flop) の二つのフリップフロップを用いる。これらは共に 1 ビットの記憶回路で、 $Q=0$ と $Q=1$ の二つの安定状態がある。また、JK-FF は CK (クロック) が 1 から 0 に変化するタイミングで入力が出力に反映される。Fig.4 は RS-FF を、NOT 回路と AND 回路を用いて表したものである。以降 RS-FF を表す記号として Fig.5 を、JK-FF を表す記号として Fig.6 を用いる。また、Table 4 に RS-FF の、Table 5 に JK-FF の真理値表を示す。ただし、表中の「—」はそのときの値によらないことを表す。また、RS-FF の入力 R と入力 S を同時に 1 にすることは、次の状態の Q の値が予測できないため禁止されている。



入力 R	入力 S	現在の状態の Q	次の状態の Q
0	0	0	0
0	0	1	1
1	0	—	0
0	1	—	1
1	1	—	予測不可

Table 4 RS-FF の真理値表

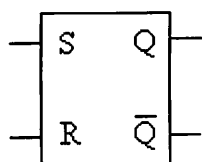


Fig.5 RS-FF を表す記号

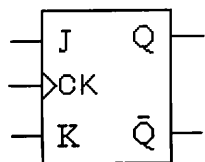


Fig.6 JK-FF を表す記号

入力 J	入力 K	現在の状態の Q	CK が 1 から 0 に変化後の Q
0	0	0	0
0	0	1	1
1	0	—	1
0	1	—	0
1	1	0	1
1	1	1	0

Table 5 JK-FF の真理値表

1-4. 研究目標

第一の目標はアナログ素子を用いて JK-FF を製作すること、第二の目標はアナログ素子からどのようにしてデジタル回路が作られるのかを調べるために、RS-FF, JK-FF それぞれについて、アナログ的入力に対する応答を観察、比較し、その違いの原因を究明することである。また、製作した JK-FF の性質を調べるために、製作した JK-FF と JK-FF の IC (74HC73) との反応速度の違いを測定することも目標としてあげる。

2. 実験手順

2-1. 製作 1 アナログ RS-FF の製作

まず、RS-FF の回路図をもちいて、RS-FF の回路をダイオード(1S1588)、トランジスタ(2SC1815GR)、抵抗(100 Ω, 10 kΩ)、プッシュスイッチ、LED (秋月電子通商、φ5 mm 超高輝度丸形発光ダイオード) を用いて、ブレッドボード (Sunhayato, SAD14) 上に製作した。その回路図を Fig.7 に示す。

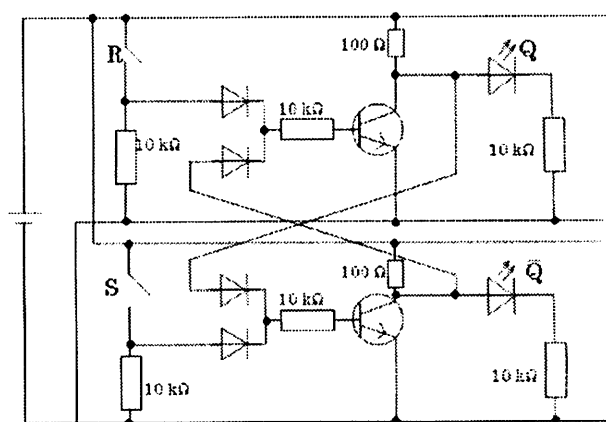


Fig.7 RS-FF の回路図

2-2. 実験 1 アナログ RS-FF 入力電位の連続変化(S 変化, R 固定)

RS-FF の動作確認を行った後、入力 S をプッシュスイッチから可変抵抗 (0~200 kΩ) に変更した。プッシュスイッチでは入力 S の電位が 0 と 1 の二つの状態しか取れないが、可変抵抗に換えて抵抗値を 200 kΩ~0 kΩ の間で連続的に変化させることにより入力 S の電位を 0 から 1 へ連続的に変化させることができる。つまり、プッシュスイッチを可変抵抗に換えることはアナログ RS-FF の入力 S をデジタルからアナログにするためのものである。出力 Q=0 の状態から可変抵抗の抵抗値を 200 kΩ から 0 Ω へ連続変化させ、そのときの回路図の電位の変化を Easy Sense II (株式会社ナリカ, E31-6991) の電圧センサー (-20~20 V) (株式会社ナリカ, E31-6990-08) で測定した。

2-3.実験 2 アナログ RS-FF 入力連続変化(R と S 両方変化)

次に RS-FF の入力 R をプッシュスイッチから可変抵抗に換えて入力 S と R の抵抗値をそれぞれ変え、そのときの回路内の電位の変化を Easy Sense II で測定した。なお今回は RS-FF 内の電位がどのように変化していくのかを調べるために、通常禁止されている $S=1, R=1$ の状態をとることを許した。

2-4.製作 2 アナログ JK-FF の製作

RS-FF の実験終了後、JK-FF をダイオード、トランジスタ、抵抗、プッシュスイッチを用いて製作するために、入力が 2 個の AND 回路、入力が 3 個の AND 回路、NOT 回路の回路図を考案した。Fig.12 は入力が 3 個の AND 回路と NOT 回路の回路図である。左の AND 回路は入力の電位が 1 または 0 のときは緒言の Table 2 の真理値表に従う。しかし、入力の電位がすべて 1 または「1 と 0 の間の電位（以下中間電位）」であるとき、出力 Q は中間電位をとる。ただし、一つでも入力に 0 が含まれるとき出力 Q は 0 となる。右の NOT 回路は入力の電位が 1 または 0 のときは緒言の Table 3 の真理値表に従う。なお、入力が中間電位のときは出力 Q も中間電位をとるが、今回の実験では NOT 回路の入力に中間電位を入力することはない。

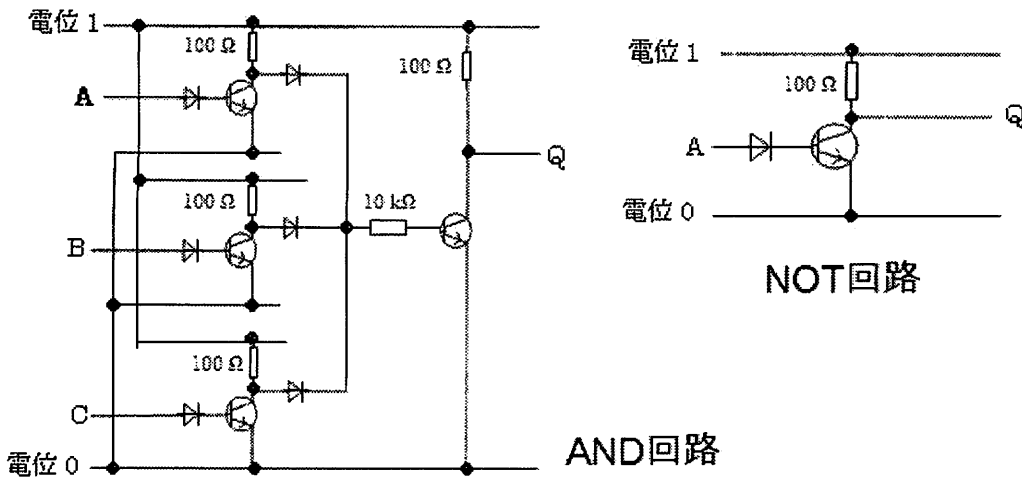


Fig.8 AND 回路(左)と NOT 回路(右)の回路図

JK-FF の簡易回路図 (Fig.9) をもとに、これらの回路と RS-FF を接続した。その際動作不良を起こし JK-FF として機能しなかったため、回路図から問題点を考察した。考察ののち、回路中で分散して流れないといけな電流が、分散せずに抵抗のない場所へ流れてしまっていることが分かった。これを改善するため、Master RS-FF(1 段目の RS-FF)と「Master RS-FF と Slave RS-FF(2 段目の RS-FF)をつなぐ AND 回路」を接続するのに、その間に抵抗 (10 kΩ) を加えた。また、出力 Q, \bar{Q} から「入力 K, J」につながっている AND 回路」へ接続するのに、その間に抵抗 (10 kΩ) を加えた。これらの操作により正常に動作するようになった JK-FF のダイオード、トランジスタ、抵抗、プッシュスイッチを用いた回路図を Fig.10 に示す。なお、Fig.10 では上記の動作不良を改善するための抵抗を太く表示してある。以下の実験手順で述べるアナログ JK-FF というのは、この JK-FF を指すこととする。

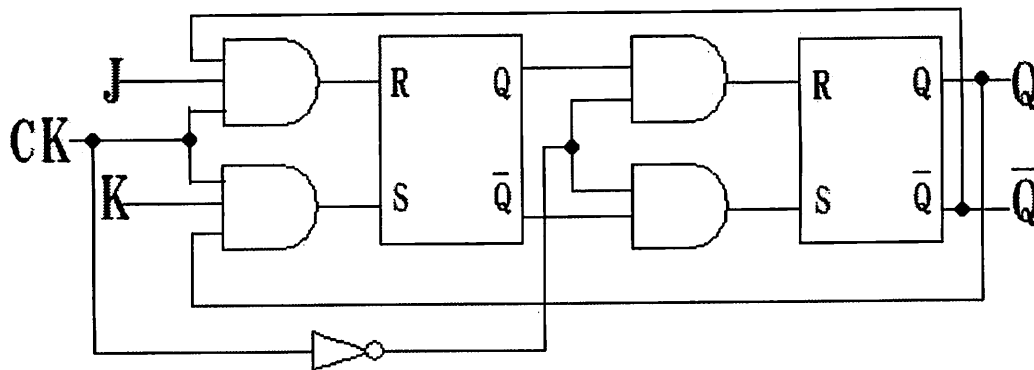


Fig.9 JK-FF の簡易回路図

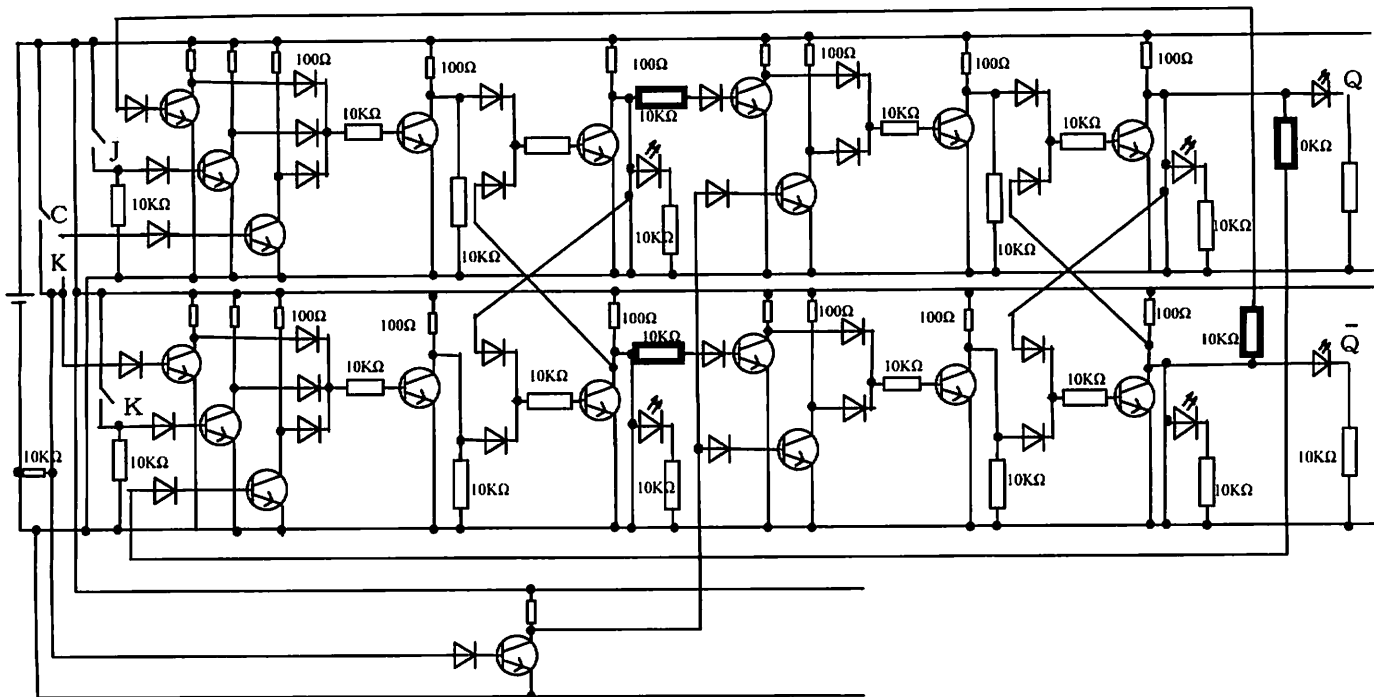


Fig.10 アナログ JK-FF の回路図

2-5.実験 3 アナログ JK-FF とデジタル JK-FF の反応速度の違い

アナログ JK-FF と IC (74HC73) (以下デジタル JK-FF) との反応速度の違いを調べるため、電池、CK のプッシュスイッチを二つの JK-FF で共通にして、両方の出力 Q を早押し判定機につないだ。ここで、早押し判定機の回路図 Fig.11 に示す。この早押し判定機は、二つの出力がともに 0 のとき、二つの入力のうち一方の入力の電位が 1 になるのが速ければ、それに対応する出力の電位が 1 となり、もう片方の出力の電位は 0 のままになるというものである。デジタル JK-FF、アナログ JK-FF の電位を $CK=1$ かつ $Q=0$ の状態にしておき、両方の JK-FF の入力に $J=1$ を入力した。この状態のまま $CK=0$ としたときの早押し判定機の反応を 108 回調べた。

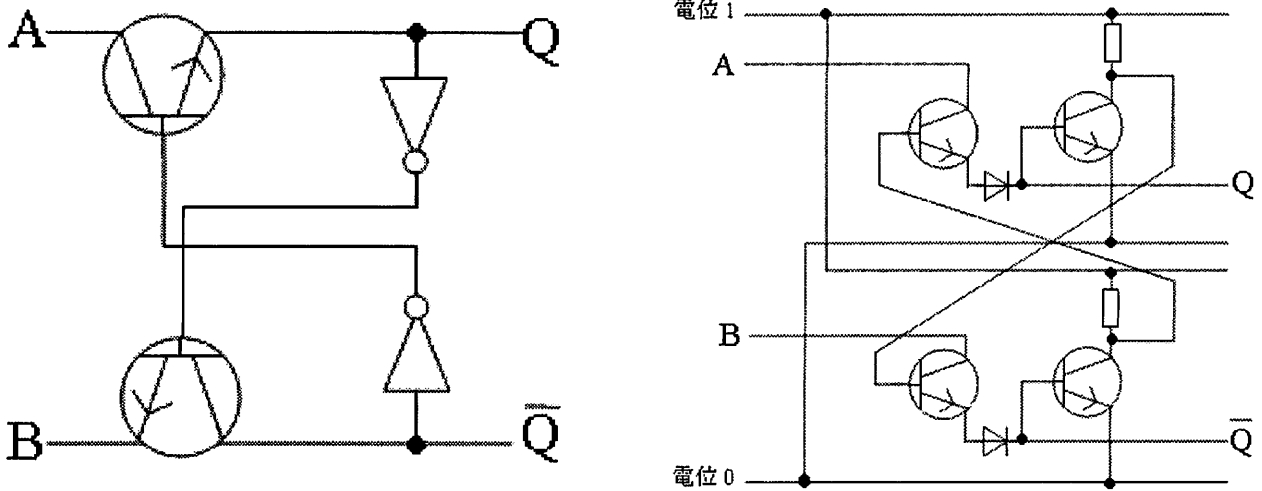


Fig.11 早押し判定回路の略式回路図(左)とダイオード, トランジスタ, 抵抗を用いた回路図(右)

2-6.実験 4 アナログ JK-FF 入力連続変化(Jのみ変化)

次に、アナログ JK-FF 単体の実験を行った。このとき、アナログ JK-FF の CK の電位が 0, 1 の両方を定期的に繰り返すときを考える。この「定期的に」というのは、実験者が手でプッシュスイッチを押し、主観的に同一な間隔で CK=0 と CK=1 を繰り返すこととする。アナログ JK-FF の入力 J をプッシュスイッチから可変抵抗に換え、J の抵抗値を 200 Ω から 0 Ω へ連続的に変化させた。そのときのアナログ JK-FF 内の電位の変化を Easy Sense II で調べた。

3.実験結果

3-1.実験 1 アナログ RS-FF 入力連続変化(Sのみ変化)

RS-FF の入力 S だけをプッシュスイッチから可変抵抗に換えて、抵抗値を連続的に変化させたときの回路内の電位の変化を Fig.12 に示す。また、このとき電位を調べた場所の番号をグラフと対応させた回路図を Fig.13 に示す。Fig.12 から、アナログ RS-FF 内では各場所に対して「電位 0,1」に相当する電位の値が異なることが分かる。①では電位 0 が約 0.50 V、電位 1 が約 3.2 V。②では電位 0 が約 0.25 V、電位 1 が約 3.2 V。③と⑤はそれぞれ回路内で対照的な位置関係にあるので、ともに電位 0 が約 0.35 V、電位 1 が約 2.7 V。④と⑥もそれぞれ回路内で対照的な位置関係にあるので、電位 1 の値はわからないが、電位 0 が約 0.35 V。これを踏まえたうえで Fig.12 で①のグラフに注目すると、これは RS-FF の出力 Q の電位の変化を表しているが、②の入力 S の電位が大きくなっていくにつれて徐々に約 0.50 V から大きくなっていき、約 1.5 V (②では約 1.8 V) になったときに約 3.2V へジャンプしていることが分かる。これはつまり、入力の電位を連続変化させると、出力の電位は連続変化して中間電位をとったのち、1 へジャンプしたといえる。なお、今回可変抵抗の正確な抵抗値と電位の関係性を調べることはできなかったため、グラフの横軸は時間で取ってある。ここで可変抵抗の抵抗値と電位の関係を大まかに述べる。最初のうちは抵抗値を変化させても、電位に変化はなかった。電位に変化が現れたのは 100 kΩ 以下のとき。①の電位に変化が現れ始めると、抵抗値に対する電位の変化が鋭敏になった。そのため、抵抗値の減少速度をごく小さくしたので、電位がジャンプする直前の抵抗値の変化の割合はかなり小さい。

出力 Q の電位がジャンプする前は、入力 S の電位を中間電位から 0 へ戻すと、つまり可変抵抗の抵抗値を最大にすると、出力 Q の電位は 0 へ戻った。それに対し、出力 Q の電位が 1 へジャンプし

た後では入力 S の電位を 0 へ戻しても出力 Q の電位は 1 のまま保存された。このことは、 $Q=1$ と $Q=0$ が連続的につながっていないことを示す。このことを Fig.14 に模式的に示しておく。

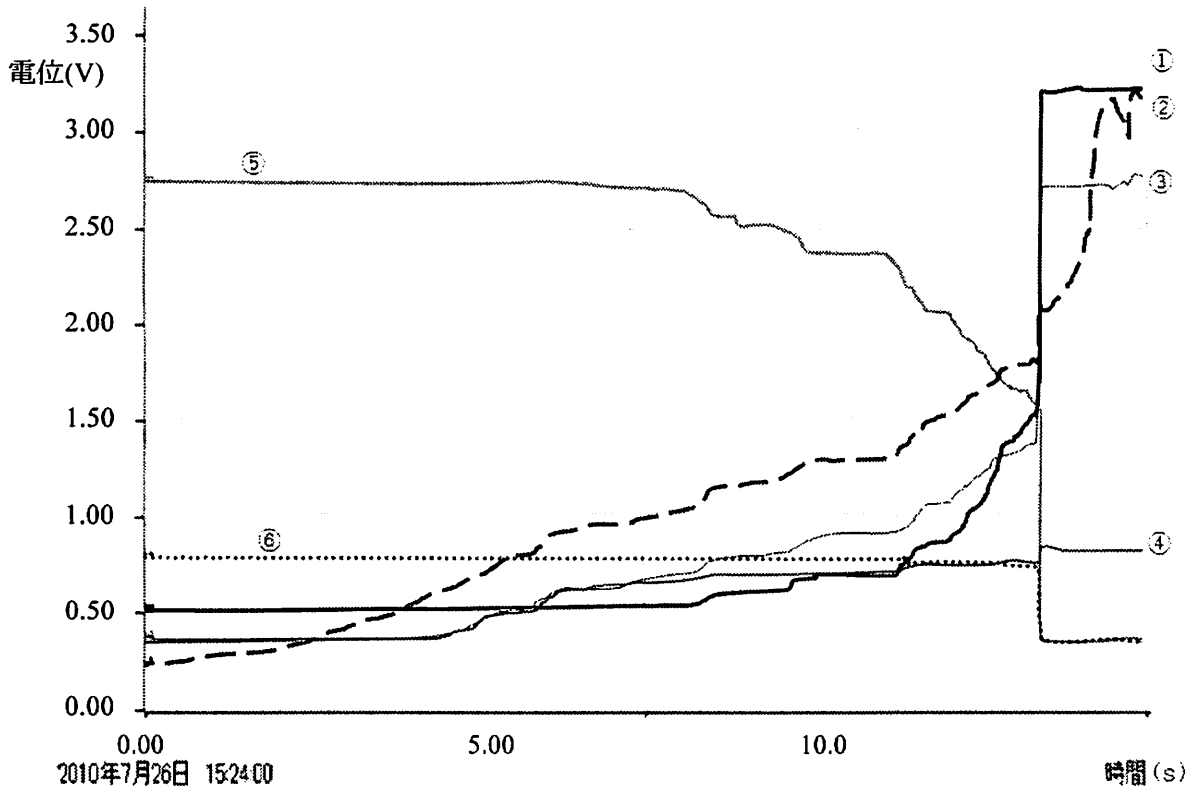


Fig.12 RS-FF の入力 S の電位を連続変化させたときの回路内の電位の変化

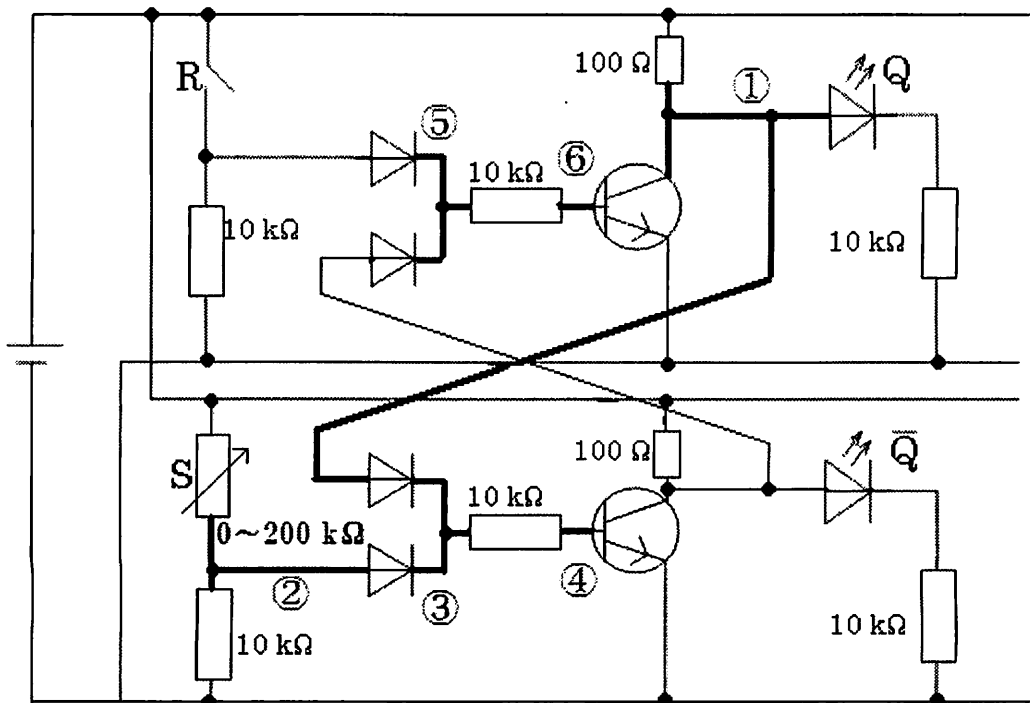


Fig.13 Fig.12 と番号を対応させた RS-FF 回路図

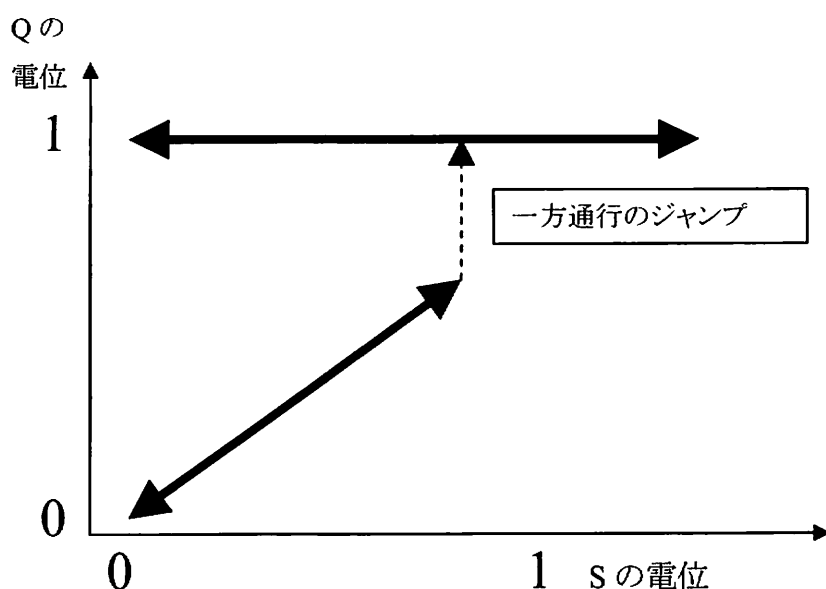


Fig.14 R=0 のときの入力 S と出力 Q の関係

3-2.実験 2 アナログ RS-FF 入力連続変化 (R と S 両方変化)

次に、入力 S とともに入力 R もプッシュスイッチから可変抵抗へ換え、抵抗値を連続変化させた。S=0 かつ Q=0 のときに、入力 R の電位を可変抵抗の抵抗値を変えることにより、任意の値にした。その状態で入力 R の可変抵抗の抵抗値を固定し、入力 S の電位を 0 から 1 へ連続変化させると、入力 R の電位が約 1.83 V 以下の時には、入力 S の電位が 1.83 V 付近に達したとき、出力 Q の電位がジャンプした。このとき電位 1 に相当する電位は約 3.15 V であった。その結果を Table 6 に示す。Table 6 の最上段には入力 R の任意に選んだ電位をとり、それぞれの電位の下には出力 Q の電位が 0 から 1 へジャンプしたときの入力 S の電位を表示した。そのとき入力 R の電位に変化があったものは、入力 S の電位の下にその電位を表示した。この結果から、任意に選んだ入力 R の電位が 1.83 V に近づくと、出力がジャンプした後にその電位が低くなるのが分かった。

また、入力 R の電位が 1.83 V より大きい時には、入力 S の電位の連続変化に合わせて、出力も連続変化をした。

ジャンプ直前の入力 R の電位	0.20 V	0.92 V	1.38 V	1.77 V	1.83 V
ジャンプ直前の入力 S の電位	1.83 V	1.87 V	1.82 V	1.83 V	1.82 V
ジャンプ直後の入力 R の電位	変化なし	変化なし	変化なし	1.62 V	1.68 V

Table 6 出力のジャンプ直前の入力 R, S の電位と、ジャンプ直後に変化のあった入力 R の電位

今回の実験で得られた結果の模式図を Fig.15 に示す。これは入力 S, R の電位に対する出力 Q の電位の動く範囲を表したものである。また \bar{Q} の動く範囲は面 $S=R$ に関してこれと対称である。

実験 1 では S 軸上 (R=0) の現象のみを扱った。これに対し、Q=1 かつ S=1 のとき入力 R の電位を 0 から 1 へ連続変化させると、出力 Q の電位はジャンプせず、連続的に 1 から 0 に変化した。その後入力 S の電位を 1 から 0 へ連続変化させると、Q=0 のまま、出力 \bar{Q} の電位は 0 から 1 へ連続的に変化した。この間出力の電位にジャンプは起きなかった。また Table 6 より、R の電位がある値 X (Table 6 では 1.83 V) より小さい場合には S=X で出力がジャンプし、R の電位がある値 X より大きい場合には出力にジャンプは起こらず、連続的に変化した。以上より、次の二つのことが分かった。

S=1 かつ R=1 の状態を経ることで、S 軸上、R 軸上を動くだけでは連続的に 0 と 1 に入れ替わることのできない出力の電位を連続的に 0 と 1 に入れ替えることができる。そして、Q=0 のとき入力 R の電位がある値 X よりも小さい場合には、入力 S の電位を 0 から 1 へ連続変化させ、入力 S の電位がある値 X になったときに出力 Q が中間電位から 1 へジャンプするが、入力 R の電位がある値 X よりも大きい場合には入力 S の電位を 0 から 1 へ連続変化させても Q=0 のままであり、出力 Q の電位が 1 から 0 へ向かい連続変化する。また、後者の発見より、S=X かつ R=X 付近の状態は複雑になっていることが推測できる。

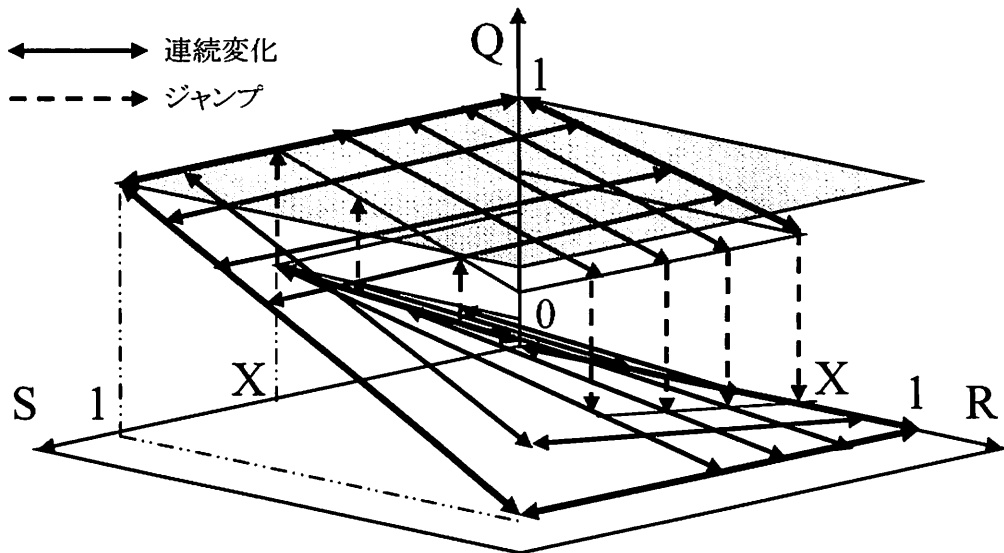


Fig.15 入力 S,R に対する出力 Q の可動域

3-3.実験 3 アナログ JK-FF とデジタル JK-FF の反応速度の違い

アナログ JK-FF とデジタル JK-FF をつなぎ、反応速度の違いを測定したが、その結果は失敗 52 回、デジタル JK-FF のほうが速いという結果が出たのが 56 回だった。失敗として扱った内容は、CK の電位を 1 から 0 へ変えたときにアナログ JK-FF、デジタル JK-FF のどちらかの回路が Q=1 とならなかったときのことを指す。

3-4.実験 4 アナログ JK-FF 入力連続変化(Jのみ変化)

アナログ JK-FF の入力 J をプッシュスイッチから可変抵抗へ換え、抵抗値を連続変化させたときの回路内の電位の変化を Fig.16 に示す。Fig.16 において①~⑥は、①出力 Q、②出力 \bar{Q} 、③入力 J、④ Master RS-FF (1 段目の RS-FF) の入力 R、⑤ Master RS-FF の出力 \bar{Q} 、⑥ CK、の電位である。これらの具体的な位置を示す回路図を Fig.17、簡易回路図を Fig.18 に示す。また、今回の実験では①②④⑤の電位 0 が約 0.6 V、③の電位 0 が約 0.2 V、⑥の電位が約 0.1 V、①②⑤⑥の電位 1 が約 2.0 V 付近に相当する。③④の電位 1 の値はこのグラフからはわからない。各電位が⑥CK の電位によって、安定であるはずの電位に多少の増減があるのは、アナログ JK-FF が不安定であることに起因すると考えられる。Fig.15 で①、③、⑤に注目すると、③が 0 から 1 へ連続変化するのに伴って、⑤は約 0.6 V から徐々にその電位を大きくし、③が 1.5 V 近くに達したときに約 2 V へジャンプした。これに対して①は、③が連続変化していても、電位が 0.6 V から大きく外れることはなく、⑤がジャンプした直後の⑥の動作に合わせて約 0.6 V から約 2.0 V へジャンプした。この結果より、入力 J の電位が 0 から 1 へ連続変化するのに合わせて、Master RS-FF の出力 \bar{Q} の電位は連続変化ののち 1 へジャンプするが、アナログ JK-FF 全体の出力 Q の電位は 0 から 1 へジャンプして、デジタルであることが分かった。

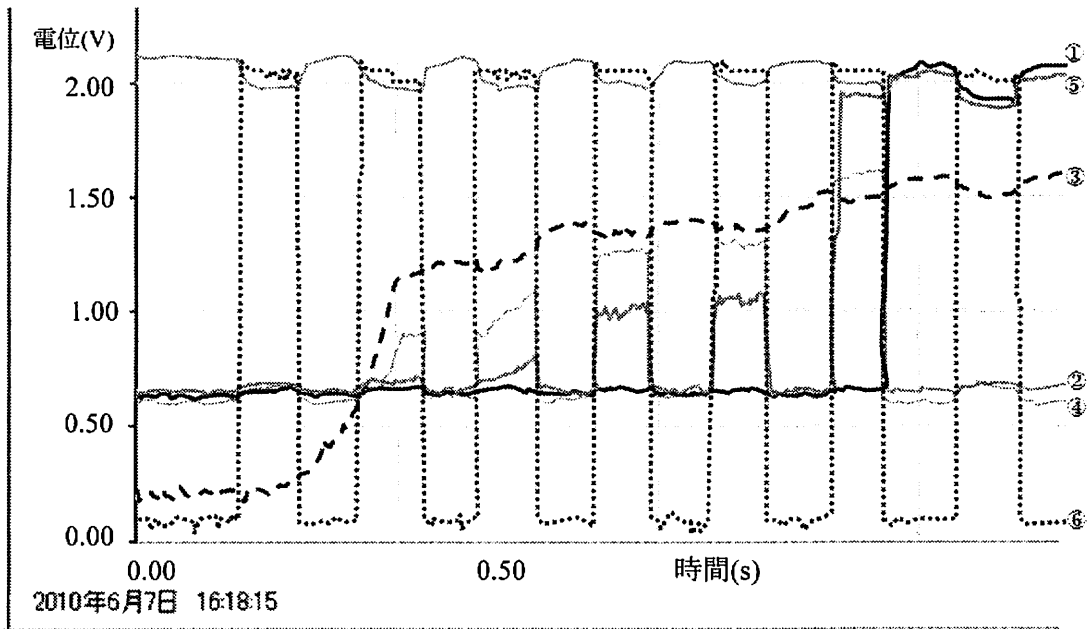


Fig.16 JK-FF の入力 J の電位を連続変化させたときの回路内の電位の変化

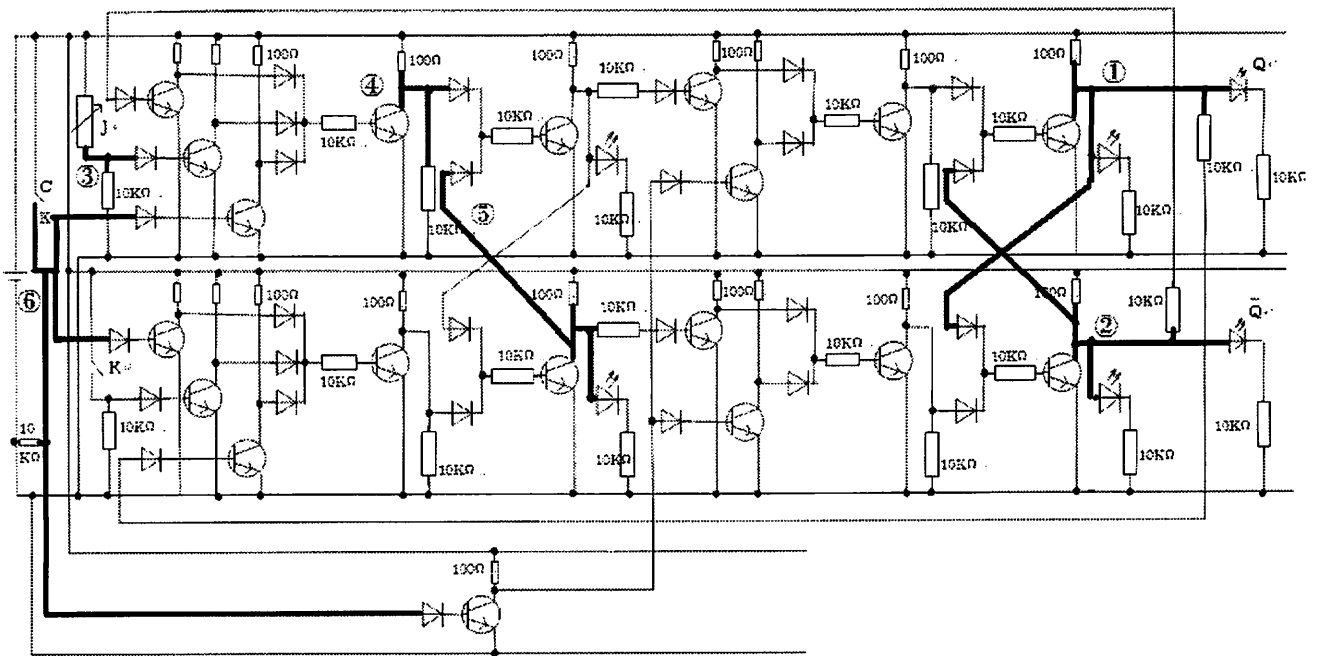


Fig.17 Fig.16 と番号を対応させた JK-FF 回路図

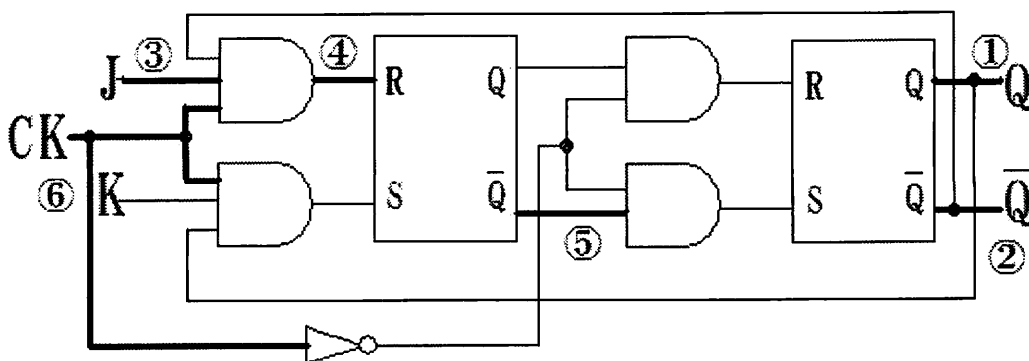


Fig.18 Fig.16 と番号を対応させた JK-FF 簡易回路図

4. 考察

4-1. 実験 1 アナログ RS-FF 入力連続変化(Sのみ変化)

Fig.19はアナログRS-FFの入力Sを0→1へと連続変化させたときの入力Sと出力Qの関係である。15.0秒付近でそれまで少しずつ増加していたQの電位が急にジャンプし、約3.25VでQは一定となっている。Sを0→1へ変化させている際、出力Qがジャンプする前の段階(Sの電位が1.8Vより下)ならばSを途中で0に戻したときQも最初の0の状態へと戻ることができるが、Qがジャンプしてしまった後ではSを0に戻しても出力Qは1のまま最初の0へ戻らないという違いがあることが分かった。このことから入力を0→1変化させる過程に回路の内部で何らかの変化があったことが推測される。ここで我々は実験で使用したアナログRS-FFに使っているトランジスタの性質と、四つのダイオードのうちの一つに、出力Qが急な変化を示す理由があるのではないかと考えた。これから出力が急に変化する原因のダイオードをFig.20回路図中のダイオード③で表す。またトランジスタ⑥、などのパーツ名と数字はFig.20の回路図内の数字と図に対応している。まずトランジスタのベース電流とコレクタ電流の関係を調べてみたところ、ベース電流が小さいとき、ベース電流の増減に合わせてコレクタ電流も増減することが分かった。次に、実験で使用しているダイオードに電圧をかけたときの特性を調べてみたところ、0.38V未満の電圧がダイオードにかかっている場合、ダ

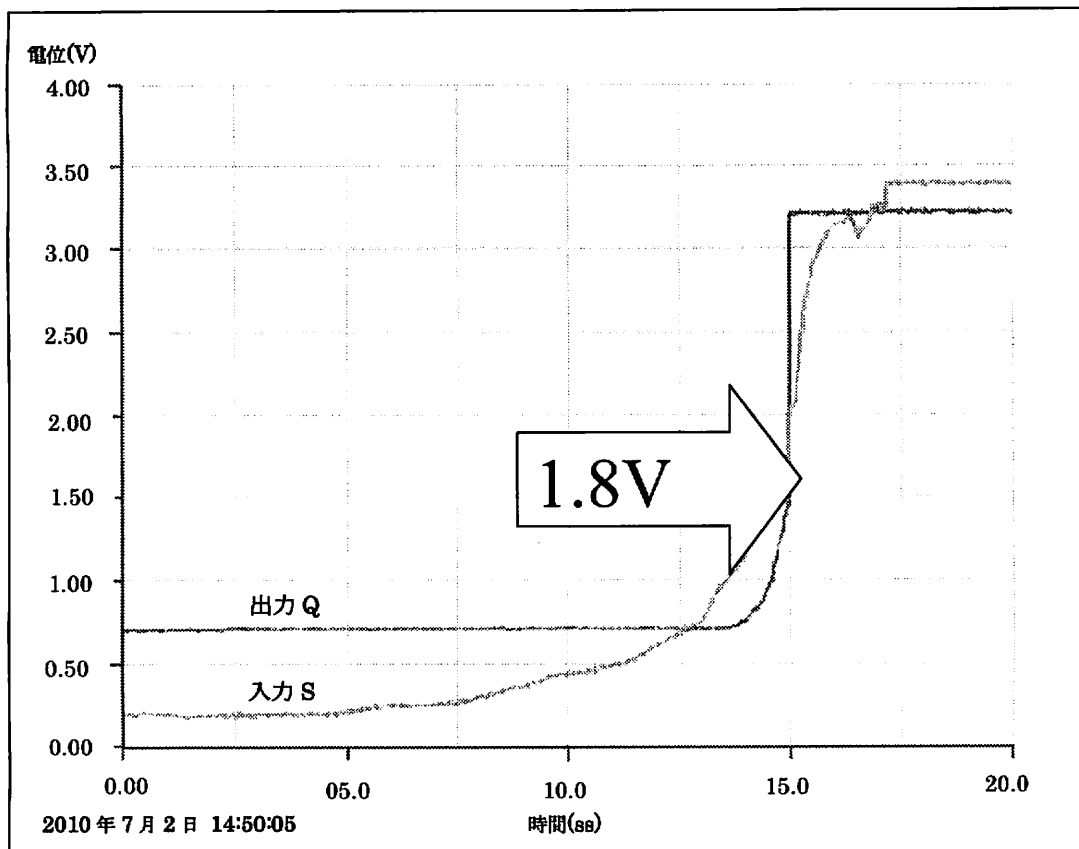


Fig.19 入力Sの電位変化に対する出力Qの電位変化

イオードは電流を流さないことが分かった。つまり、ダイオードに0.38V以上の電圧がかかり始めたときダイオードは電流を流すようになる。そこで実際に出力Qがジャンプする直前に、ダイオード③の直前の電位を計測すると、2.16Vであった。そしてダイオード③の直後の電位を計測すると1.76Vという結果が得られた。これらからダイオード③にかかっていた電圧は $2.16 - 1.76 = 0.38V$

という値が導き出される。これはジャンプの直前ダイオード③に流れる電圧が 0.38 V だったという実験結果と合致する。

これらから入力 S の連続的な変化に対して出力 Q の電位がジャンプという現象の原因がダイオード③にある、という仮定は正しかったと思われる。以下はその後の考察である。

S の電位を 0→1 へ連続的に変化させると、ダイオード③にかかる電圧が次第に増加する。このときダイオード③にかかる電圧が 0.38 V 以上になると、ダイオード③に電流が流れ始める。トランジスタ⑥のベースにダイオード③④から電流が流れ込むので、トランジスタ⑥のベース電流は増加する。よってトランジスタ⑥のコレクタ電流が増加、これよりダイオード②に流れる電流が減少する。使用したダイオードの特性から、ダイオード②に流れる電圧が 0.38 V 未満になったときトランジスタ⑤のベースに流れ込む電流が減少し、ほとんど流れない。またこのとき入力 R は 0 で固定しているのでダイオード①に電流は流れない。よってトランジスタ⑤のベースに流れ込む電流は 0 となる。ベースに電流が流れなくなったので、トランジスタ⑤のコレクタ電流は減少しダイオード③に流れ込む電流が増加する。この現象はダイオード③に電流が流れ始める、という最初の変化が回路中でトランジスタや抵抗、他のダイオードを通して最終的にもう一度ダイオード③に流れる電流を増加させるというメカニズムになっており、ダイオード③に流れる電流がフィードバックによって一瞬で増大することで出力 Q の値が急激に増加、ジャンプするという結果が生じる。

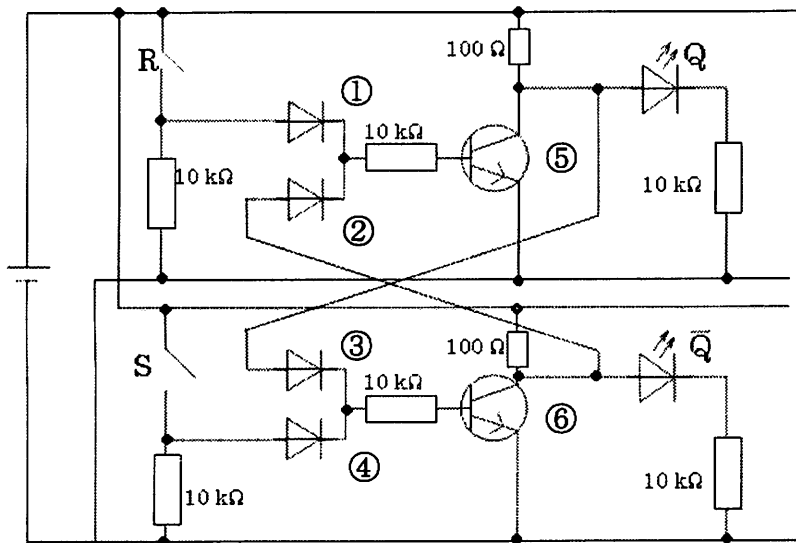


Fig.20 アナログ RS-FF の回路図(考察説明用)

4-2.実験 2 アナログ RS-FF 入力連続変化(R と S 両方変化)

入力 R と S の両方に可変抵抗を用いて連続変化させた場合の実験結果は、実験結果の項で先に示したように入力 R, S のうち、連続変化させた S の電位が 1.83 V 付近になると出力 Q がジャンプすること、抵抗値を固定した R の電位が固定する抵抗値によって Q のジャンプ前後で変化することなどが分かった。しかしこれらの現象のメカニズムは明らかになっていない。

4-3.実験 3 アナログ JK-FF とデジタル JK-FF の反応速度の違い

この実験ではアナログ JK-FF が他の回路と繋いだときにアナログ JK-FF の回路内電位が不安定になってしまい、本来起こらないはずの動作をしてしまうことが分かった。これはアナログ JK-FF に関する他の実験を進めていく上でも他の回路と組み合わせて使うことが出来ないという大きな問題なので、他の回路と繋いでもアナログ JK-FF の回路内電位が不安定にならないように改善していく

必要がある。

(実験 4)アナログ JK-FF 入力連続変化(J のみ変化)

JK-FF の入力 J を連続変化させたときのアナログ JK-FF 回路についての考察を Fig.21 の回路図を元に行う。アナログ JK-FF の出力 Q に 0, \bar{Q} に 1 が出力されている状態を考える。ここで CK に 1→0→1→0 と電位が入力されているとき、その状態を順に(a)(b)(c)(d)とする。入力 J には中間電位が入力されており連続的に電位を上げていき、K には 0 が入力されているとする。ちなみに、アナログ JK-FF の出力 Q, \bar{Q} とは Slave RS-FF の出力 Q, \bar{Q} と同じものを指している。AND 回路①, などの回路名と数字は Fig.21 簡易回路図内の数字と図に対応している。

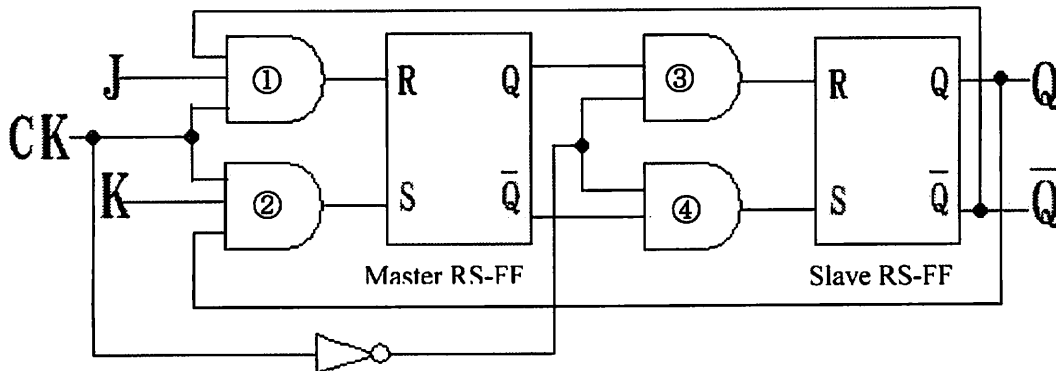


Fig.21 アナログ JK-FF の簡易回路図(考察説明用)

(a)のとき、AND 回路①には $\bar{Q}=1$, J=中間電位, CK=1 が入力されているので、Fig.8 で示した AND 回路の特性より、AND 回路①は中間電位を出力する。このときの AND 回路①の出力の中間電位は RS-FF の出力がジャンプしない電位だとする。AND 回路②には $Q=0$, $K=0$, $CK=1$ が入力されているので 0 が出力される。よって Master RS-FF の入力は $R=$ 中間電位, $S=0$ となり出力は $\bar{Q}=$ 中間電位が出力される。なお、このとき Master RS-FF の出力はジャンプしていない。AND 回路③④には CK が NOT 回路を経由して入力されており、このとき AND 回路③は \bar{CK} (CK の否定)=0, Master RS-FF の出力 $Q=1$ が入力されており 0 が出力される。AND 回路④ は $\bar{CK}=0$, Master RS-FF の出力 $\bar{Q}=$ 中間電位が入力されており 0 が出力される。Slave RS-FF は入力 R に AND 回路③の出力 0 が、入力 S に AND 回路④の出力 0 が入力される。よって Slave RS-FF の出力は $Q=0$, $\bar{Q}=1$ で保存される。つまり、JK-FF 全体の出力は $Q=0$, $\bar{Q}=1$ のまま保存される。

(b)のとき、AND 回路①には $\bar{Q}=1$, J=中間電位, $CK=0$ が入力されているので、このとき AND 回路(1)は 0 を出力する。AND 回路②には $Q=0$, $K=0$, $CK=0$ が入力されているので 0 が出力される。このときまだ Master RS-FF の出力はジャンプしていないので、Master RS-FF 入力の電位を 0 とすると出力の電位は中間電位を入力する前の電位に戻る。よって Master RS-FF の出力は $Q=1$, $\bar{Q}=0$ となる。このとき AND 回路③は $\bar{CK}=1$, $Q=1$ が入力されており 1 が出力される。AND 回路④ は $\bar{CK}=1$, $\bar{Q}=0$ が入力されており 0 が出力される。Slave RS-FF は入力 R に AND 回路③の出力 1 が、入力 S に AND 回路④の出力 0 が入力される。よって Slave RS-FF の出力は $Q=0$, $\bar{Q}=1$ で保存される。つまり、JK-FF 全体の出力は $Q=0$, $\bar{Q}=1$ のまま保存される。

(c) のとき、AND 回路①には $\bar{Q}=1$, J=中間電位, $CK=1$ が入力されており、このとき AND 回路①は中間電位を出力する。このとき、AND 回路②の出力する中間電位は RS-FF の出力がジャンプする電位とする。AND 回路②には $Q=0$, $K=0$, $CK=1$ が入力されているので 0 が出力される。ここで AND

りがとうございました。また、実験に全面的に協力してくださり、私たちの至らないところを大いに助けていただいた、文田憲行先生には特に深い感謝を申し上げます。

音波

佐藤拓朗 白川拓人 坪内博希 笠松郷志

1. 緒言

私たちは、普段生活していく上で必ず関わっている音というものがどのようなものかを知る機会をこれまで持たなかった。音とは空気の変位と圧力変化が伝わっていく現象である（啓林館出版高等学校物理Ⅰ）。この音の波のことを一般に音波と言う。初めに空気の音を振動させるものを音源または発音体と言う。さらに、音には音の三要素と言われるものがあり、高さ、大きさ、および音色で構成されている。音の高さは振動数で表すことができ、音の大きさは振幅で表すことができる。しかし、音色に関する記述はとても曖昧な表現で「高さと同じでもピアノとフルートでは異なった音に聞こえる（啓林館出版高等学校物理Ⅰ）。これは、脳が音波の波形の違いを感じているのである。このような違いを音色という。」と説明されている。このことに私たちは非常に興味を持ち、自分たちで音色の仕組みを研究しようと思った。そこで私たちはいろいろな音色の音波はたくさん振動数の正弦波を重ね合わせることでできるのではないかと仮説を立てた。私たちは様々な楽器の音を録音して解析し、それに基づいて自分たちの楽器の音を作ることにした。今回は特にトランペットの音を試みた。

2-①. 実験手順

まず、私たちは吹奏楽部に協力してもらい、トランペット、フルート、ピアノ、フォークギター、クラリネット、サクソ、トロンボーン、ホルン、ユーフォニアムの音を録音した。その録音方法は大手前高校の物理講義室で Fig.1 のように音源の前後左右に約 1 メートル間隔でマイク(AUDIX, I-5)を置き、楽器の音(440Hz のラの音)を録音した。その際、使った機材は録音ソフト(M-AUDIO, ProTools M-Powered 8)、マイクケーブル(YAMAHA, YBC03)、マイクスタンド(CLASSIC PRO, MSST/BLACK)、オーディオインターフェース(M-AUDIO, Fast Track Ultra)である。

次に、フリーソフト Audacity を使って録音した音を再生した。このソフトで横軸が時間で縦軸が振幅の波形のグラフと、横軸が周波数で縦軸が音の量のグラフを作成し、楽器による波形の違いを比較した。尚、比較に使用した楽器の音は演奏者の前方のマイク(Fig.1 の M1)で録音した音である。

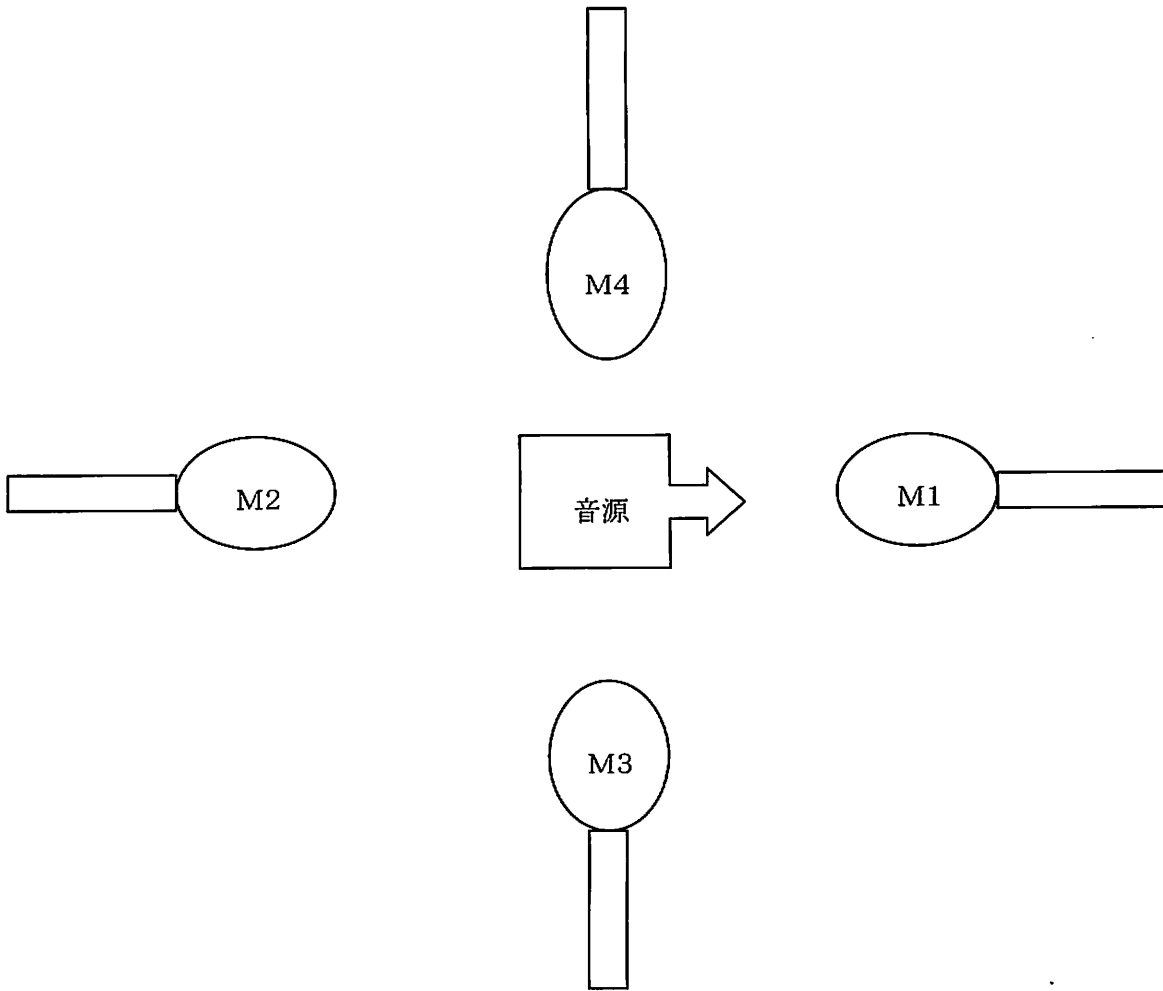


Fig.1 音源とマイクの配置

2-②.結果

Fig2~6 はそれぞれの音について横軸に時間(s), 縦軸に振幅(不明)をとったグラフである。

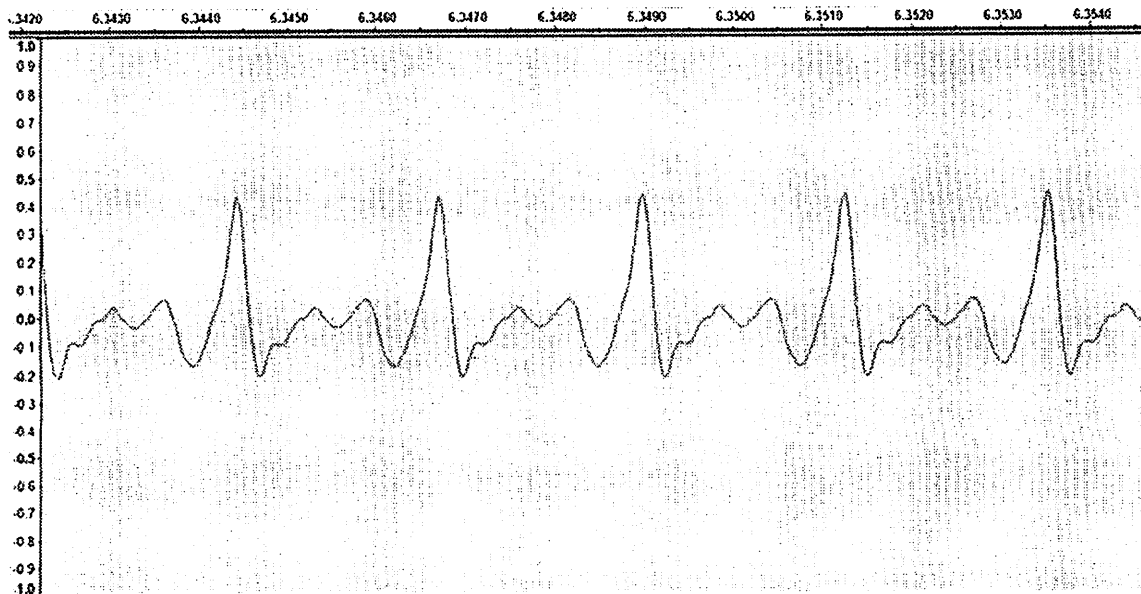


Fig.2 トランペット

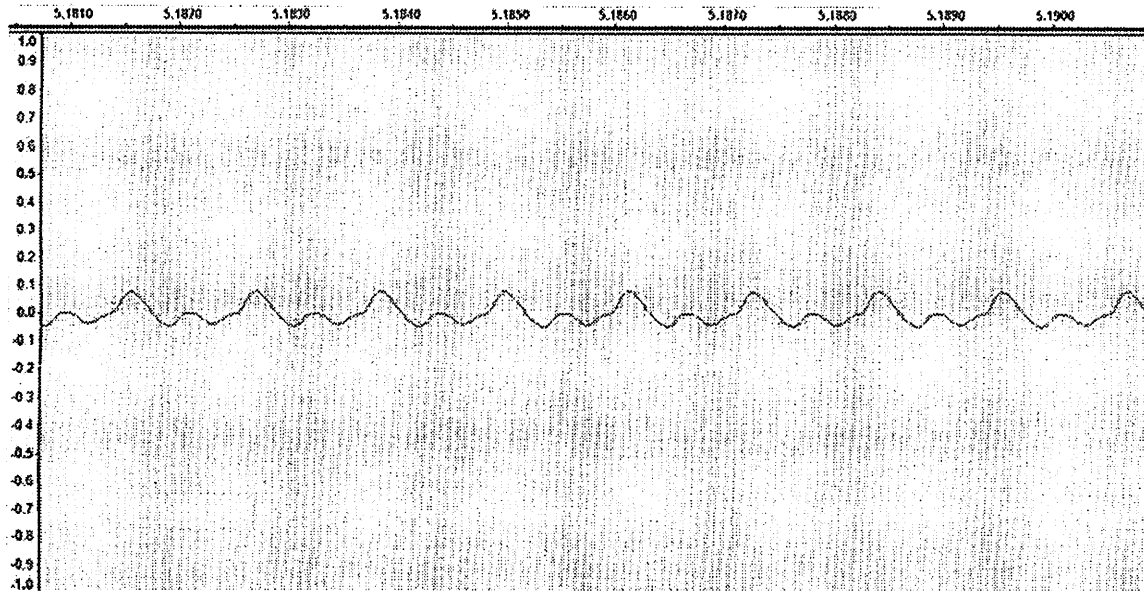


Fig.3 フルード

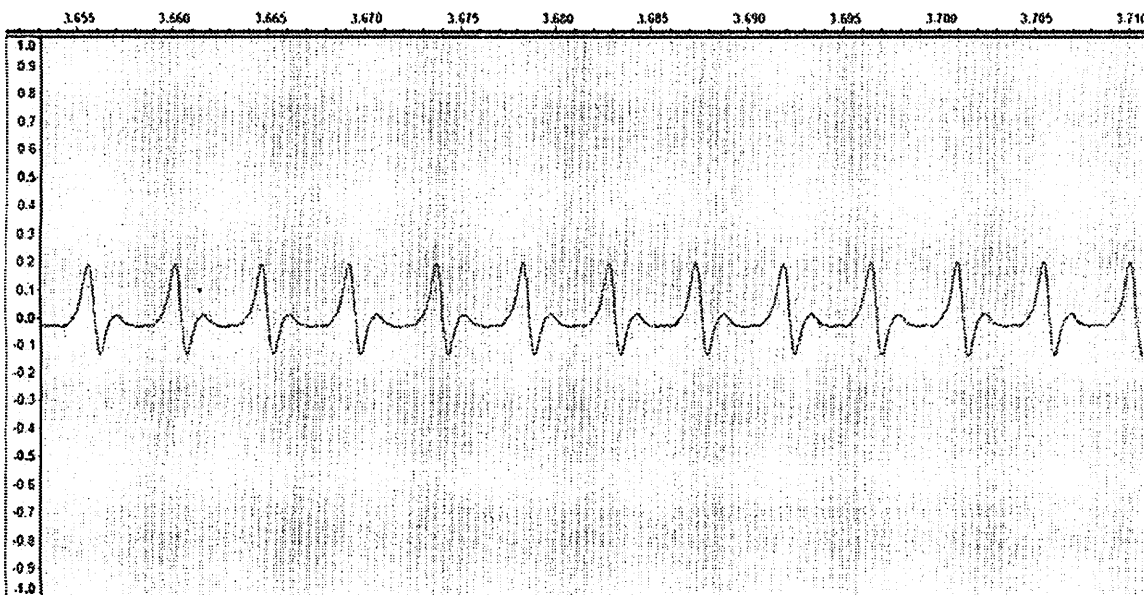


Fig.4 トロンボーン

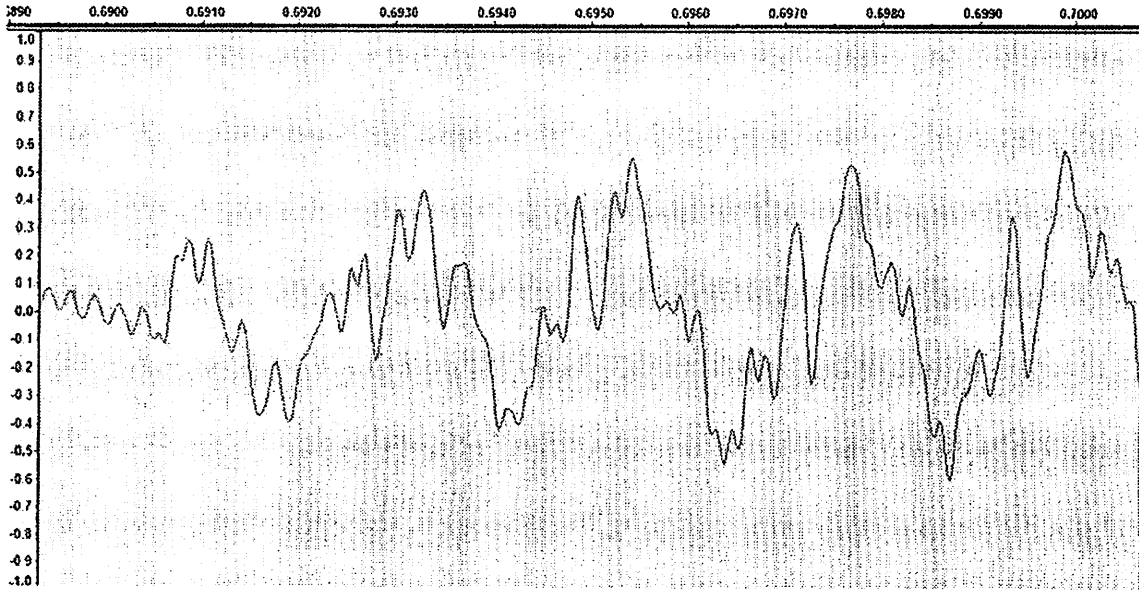


Fig.5 ピアノ

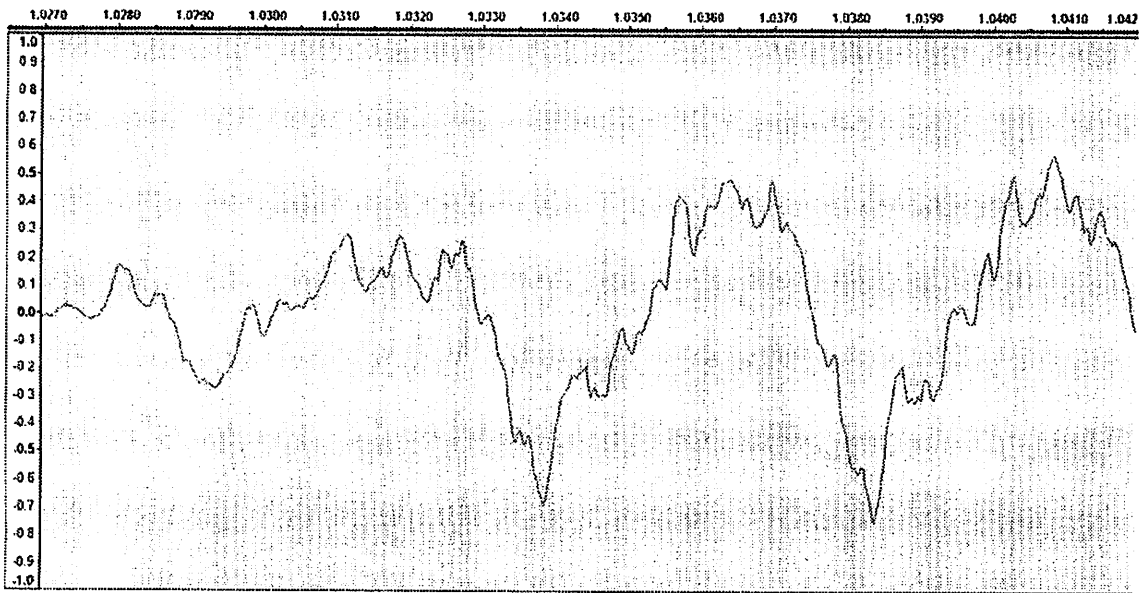


Fig.6 フォークギター

Fig7~11 はそれぞれの音について横軸に周波数(Hz), 縦軸にデシベル(db)をとったグラフである。
図の縦のラインは 440Hz を表す。

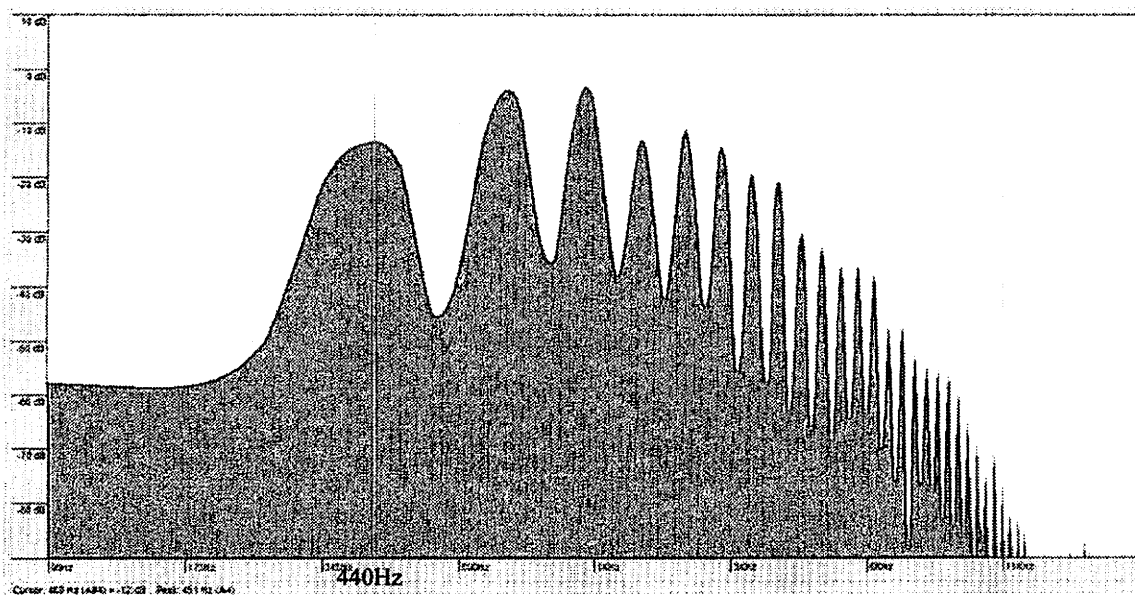


Fig.7 トランペット

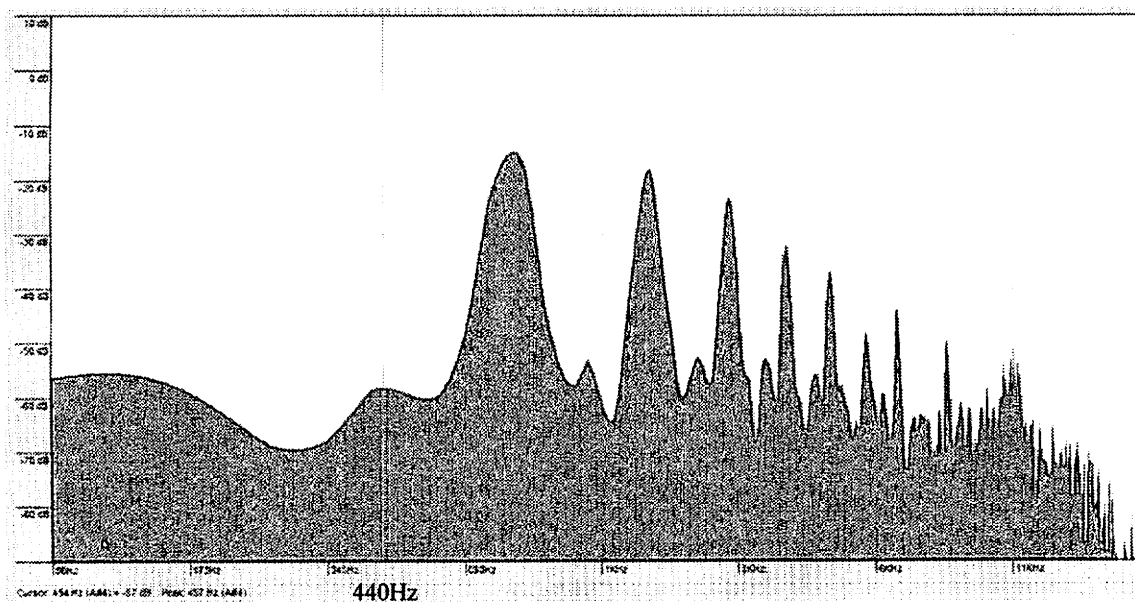


Fig.8 フルート

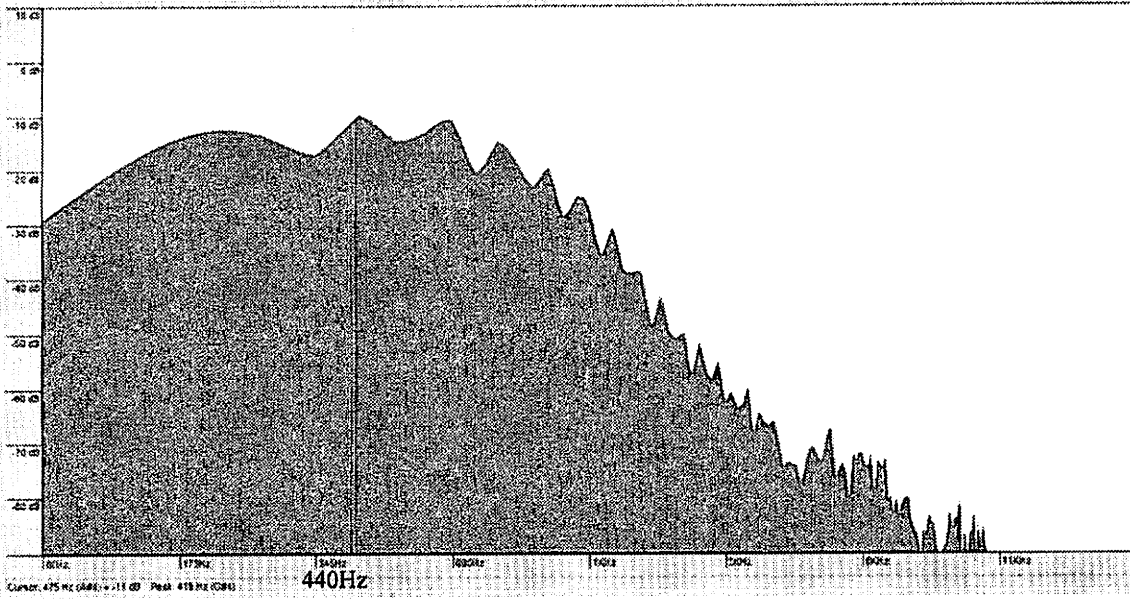


Fig.9 トロンボーン

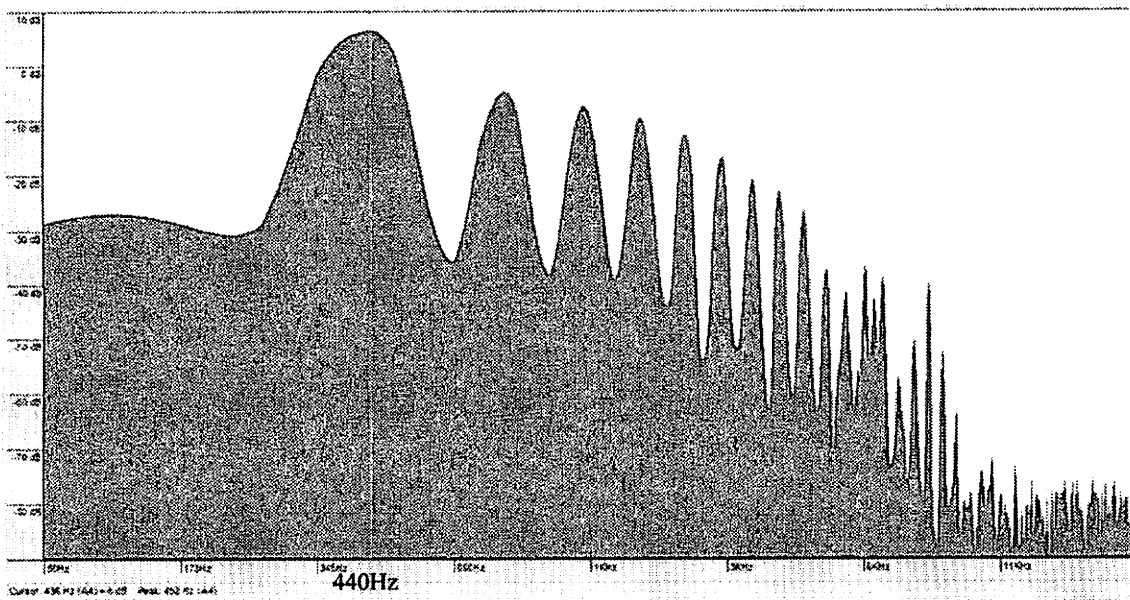


Fig.10 ピアノ

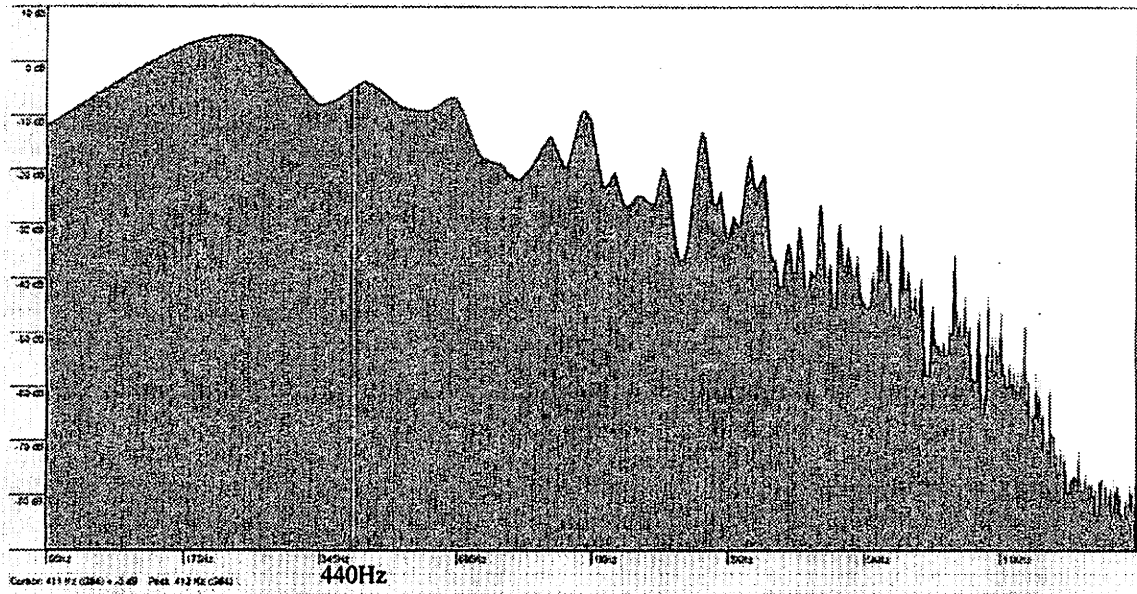


Fig.11 フォークギター

このようにそれぞれの楽器により図のような結果が得られた。

2-③考察

Fig.2~6 について波形が似ているものをグループ分けすると、管楽器と弦楽器で大きく 2 つにわかれた。管楽器の波形は比較的波形の入り交じらない単純な形で、弦楽器は不規則で複雑な形になる傾向にあった。Fig.2~6 についてから分かるように一つの高さの音を出しても様々な高さの振動数が少しずつ入っており、楽器により波形が異なることが分かった。楽器により振動数の入り方が異なることから、音色に関わる要素であると思われる。管楽器と弦楽器で波形にばらつきが見られたことからこれらの違いも音色に関わりのあることだと思われる。また、管楽器の中ではトランペットが最も単純な波形をしていることが分かった。それは、楽器の構造が関係しているのではないかと考えられる。

3-①.実験手順

トランペットの音を合成するにあたって GRAPES というフリーソフトを使用した。このソフトは、 $y=f(x)$ の式を入力することでグラフをかくことができ、その機能の一つとして、作成したグラフを音に変換することができる。グラフは Fig.7 のトランペットのグラフを見ながら、 $y=\sin x$ を基準にして、振幅や周波数を変えるために振幅を表す \sin の係数と周波数を表す x の係数を変え、それを足し合わせてグラフを作成し、元の音と聴き比べながら近づけていくことでトランペットの音を作成した。

3-②.実験結果

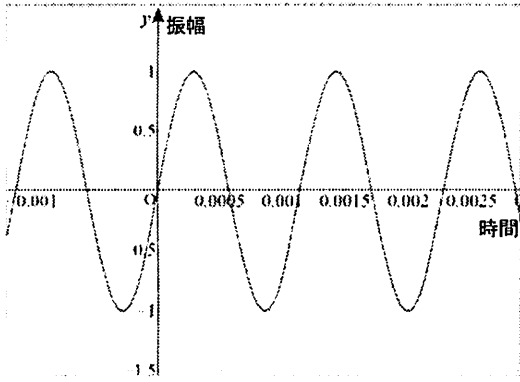


Fig.12

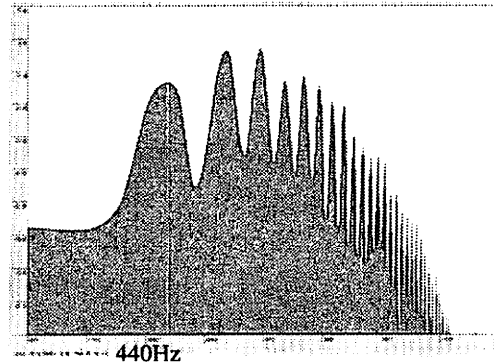


Fig.13

録音した音が「ラ」の音，すなわち 440Hz を主とした音なので，Fig.12 の縦軸が振幅，横軸が時間のグラフに $\sin x$ の周波数を 440Hz にして作成していくことにした。Fig.13 のグラフから極大部分を読み取っていくと 440Hz, 880Hz, 1320Hz…といったように 440Hz の倍数になっていることがわかったので $\sin x$ の式に $\sin 2x$, $\sin 3x$ …と加えていった。加えるそれぞれの倍音の量は実際の音に近付くように，聞きながら少しずつ数値を変え，式(1)を得た。

$$\sin(x/4)/10 + \sin x + \sin 2x/2 + \sin 3x/3 + \sin 4x/6 + \sin 5x/6 + \dots \quad \dots \text{式(1)}$$

$\sin(x/4)$ が含ませた理由は，Fig.13 のグラフで 440Hz より周波数が小さい部分(110Hz)にわずかながら極大があったからである。次に，式(1)の \sin を \cos の式に置き換え，それをまたもとの \sin の式に足し，式(2)を得た。

$$\sin(x/4)/10 + \cos(x/4)/10 + \sin x + \cos x + \sin 2x/2 + \cos 2x/2 + \sin 3x + \dots \quad \dots \text{式(2)}$$

Fig.14~16 より

\sin と \cos の音と \sin だけの音と比べると，少しずつ実際の音に近付いていっていることがわかる。

作成した音を聞いても音の厚みが増したように聞こえた。

Fig.14
実際の音

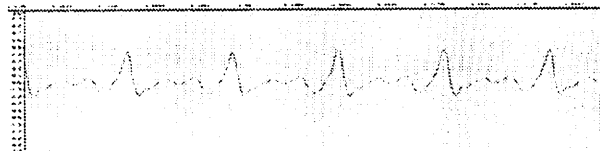
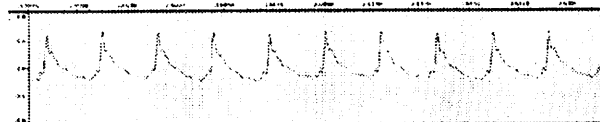


Fig.15
sin だけ



Fig.16
sin と cos



3-③.考察

$\cos x = \sin(x + \pi/2)$ なので \cos の式を足すことによって音の厚みが増した，ということは音色の違いの原因の一つは音の位相(波の 1 周期中の位置)のずれではないかと考えられる。

4. 結論

音色はたくさんの音が重なってできているという仮説が確認された。波形の似た楽器同士でグループに分けると、管楽器と弦楽器で大きく 2 つのグループに分かれた。さらに一つの高さの音を出しても、様々な高さの振動数が少しずつ入っており、楽器によって異なることが分かった。この振動数の入り方の違いが音色にかかわる要素であることがわかった。音を合成した研究から分かったことは $\sin x$ だけの式より $\sin x + \cos x$ の式の方が横軸が時間で縦軸が振幅のグラフの上ではよりトランペットの音に近付いた。そのことから私たちは音の位相のずれが音色の違いに関係していると考えた。しかし大阪市立大学の先生方の見解によると、 $\sin x + \cos x$ の式は $\sqrt{2}\sin(x + \pi/4)$ と表すことができ、これは $\sin x$ と比べると音が耳に聞こえる時の違いは振幅だけで、音色には関係ないのではないかという指摘を受けた。本当に位相が音色に関係しないかについてはさらによく調べてみる必要がある。今後の課題はピアノの音やバイオリンの音など弦楽器の音の研究を進めて、それらの音を作成することである。

5. 参考文献

- ・啓林館出版高等学校物理 I (著作者 兵藤申一, 福岡登, 高木堅志郎, 他 14 名 2009 年発行)
- ・Audacity: フリーのオーディオエディタ・レコーダー
(<http://audacity.sourceforge.net/>)
- ・WelCome to GRAPES
(<http://www.osaka-kyoiku.ac.jp/~tomodak/grapes/>)

6. 謝辞

今回の SSH の研究において協力していただいた関係者の皆様ありがとうございました。大手前高校の物理科の竹林秀浩先生, 今西さやか先生, 蜂須賀豊先生, 文田憲行先生ならびに大阪市立大学の理学部の糸山浩先生, 中尾憲一先生, 神田展行先生, 荻尾彰一先生をはじめ多くの先生方には研究方針やアドバイスをしてくださりスムーズに進めることができました。僕たちの無理難題な要求にも対応し、一緒になって考えていただきとても心強かったです。本当に心からの感謝の言葉を申し上げます。

野球における変化球の軌道の観測

石井良平 今井康貴 浦谷啓太 木嶋優斗 村田勇樹

1. 緒言

野球の楽しみの一つと言えるのが、ピッチャーの投げる様々な変化球である。いろいろな方向へボールを曲げてバッターを翻弄する投球術は、ホームランと同様に観客を魅了する。そんな野球には欠かせないものとなった変化球に興味を持った我々は、大阪市立大学の協力のもとで変化球についての研究をすることにした。

変化球とは、重力や空気抵抗などによってボールが様々な方向に力を受け、放物線とは違った軌道を描くものである。その軌道は流体力学を用いることで、計算によるシミュレーションが可能である。これについては過去に茨城大学の関口と坪井がボールの回転数や縫い目の位置が変わることにより軌道が変化することを計算式からシミュレーションし確認している。

さて、野球ボールの軌道の変化を見るとき、キャッチャーから見た変化と実際に起こる軌道の変化には少しズレがある。そのズレとは、基本的に一樣な変化をするそれぞれの変化球が、キャッチャーから見ると急に変化するように見えたり、実際の軌道よりも大きく変化したように見えたりすることである。そこで我々は、いろいろな種類がある変化球のうちいくつかを選び、実際にボールを投げ、ボールの軌道を定量的に分析し、その結果とキャッチャーの感覚とを比較した。分析した球種はピッチングマシンで投げやすい球種である、速いストレート、遅いストレート、カーブ、スライダー、ナックルの 5 種類で、右利きのピッチャーが投げることを想定して実験をした。

まず一般的なこの 5 球種の定義について記述する。ストレートとは直線的な軌道の速球であるが、今回はストレートの球速を変えて、速いストレートと、比較的遅いストレートの 2 球種として扱った。カーブとはピッチャーの利き腕と反対側に曲がりながら落ちる球種、スライダーとは投げてからしばらくしてピッチャーの利き腕と反対方向に曲がる球種、ナックルとはほぼ無回転の球であり、空気抵抗によって不規則な変化をして、投げる度に違った軌道を描く球種のことである。

次にキャッチャーの感覚について記述する。ストレートは、真っ直ぐ進む球で、他の球種に比べて軌道の変化が小さい。今回の実験では速いものと遅いものとで区別し、遅いストレートは速いストレートに比べて、比較的山なりの軌道である。カーブは、山なりの軌道から大きく下に曲がる。スライダーは、速度があるのでストレートと見分けがつきにくい。また手元に来た時にピッチャーの利き腕と逆方向に変化する。ナックルは手元に来た時に揺れながら急に落ちるように感じる。

我々はこのようなキャッチャーの感覚と実際の軌道とのズレが生じるのにはどのような原因があるのかを考えるために、ハイスピードカメラを用いてそれぞれの球種の実際の軌道を撮影し、その映像から客観的な軌道のグラフを作成した。グラフは、鉛直方向の変化を表すものと、水平方向を表すものの二つを作った。それぞれ軌道の変化を縦軸に、時間を横軸にとった。

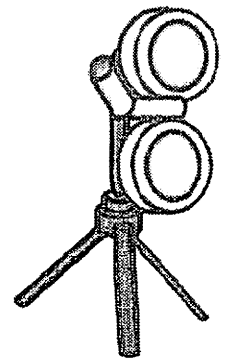
そして、そのグラフからそれぞれの球種に対する考察、またそれぞれの球種を比較した考察を行い、ズレが生じる原因を考えた。

以下その考察に至るまでの過程を記す。

2. 実験手順

ピッチングマシン(JUGS, オールラウンドピッチングマシン)、硬式野球ボール(ミズノ, 試合球 20H10100)、ハイスピードカメラ(CASIO, EXILIM EX-F1)を用いてボールを撮影した。まず、

ボールの始点と終点の距離を18mとし、1mごとに白線を引いた。カメラを終点の地面から90cmの位置に固定し、また始点と終点とを結んだ直線から左右に27cmの位置にコートブラシを1mずつ左右交互に置いた。次にコートブラシの下から115cmの位置にボールと同じ大きさの目印を取り付けた。そして、ピッチングマシンの左右のモーターの回転速度を調節しながらストレート、遅いストレート、カーブ、スライダー、ナックルの5種類を投げ、ハイスピードカメラで撮影した。その後撮影した映像をパソコンを用いて解析した。解析の手順は以下の通りである。まず、映像を静止画として0.1秒ごとに切り取る。その一枚一枚をペイントに張り付けてコートブラシに張り付けた目印とその時点でのボールの大きさを比較することで、ボールの奥行き方向の位置を把握した。平面上の位置は、ペイントの右下に表示される座標をもとにして、それぞれの値をメートルに直し、縦方向・横方向を表すグラフを作成し、感覚との違いを比較した。



ピッチングマシン

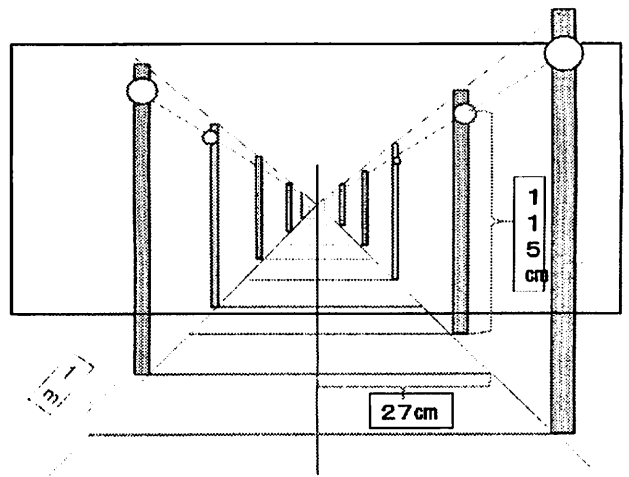


Fig.2 撮影セットの模式図

3. 実験結果

以下に示すグラフは上に示した方法で作成したグラフである。また、ここで言う FS,SS,C,SL,Kとはそれぞれ速いストレート(Fast Straight), 遅いストレート(Slow Straight), カーブ(Curve), スライダー(Slider), ナックル(Knuckle)のことを言う。(グラフの縦軸、横軸の単位はすべてcm, 秒である) 又、鉛直方向とは地面からの高さ、水平方向とは中心から右(正)左(負)の変位のことである。

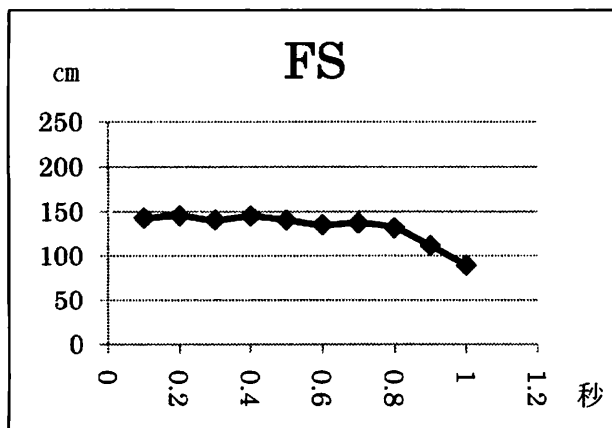


Fig.3 FS の鉛直方向

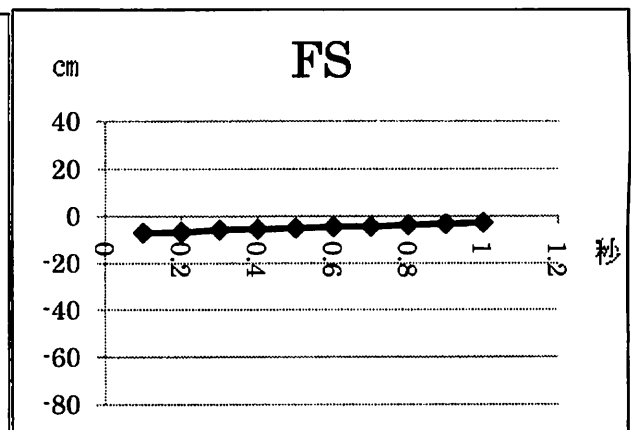


Fig.4 FS の水平方向

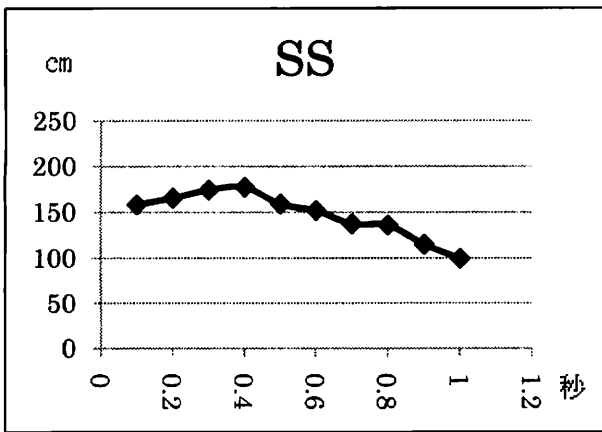


Fig.5 SSの鉛直方向

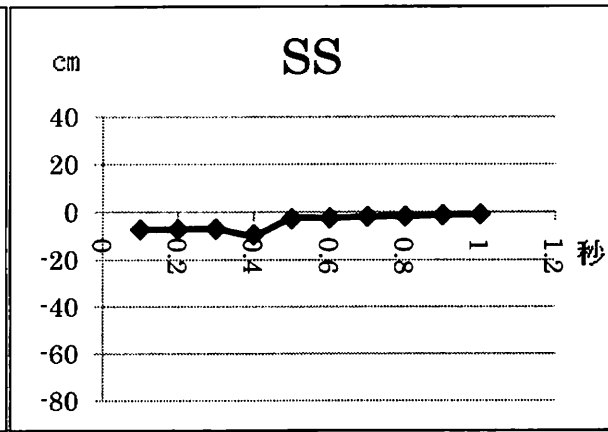


Fig.6 SSの水平方向

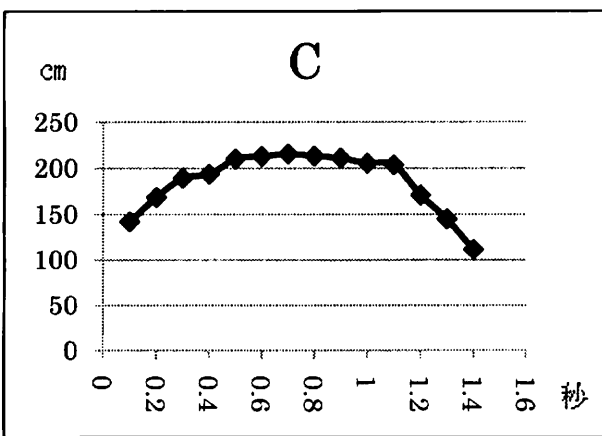


Fig.7 Cの鉛直方向

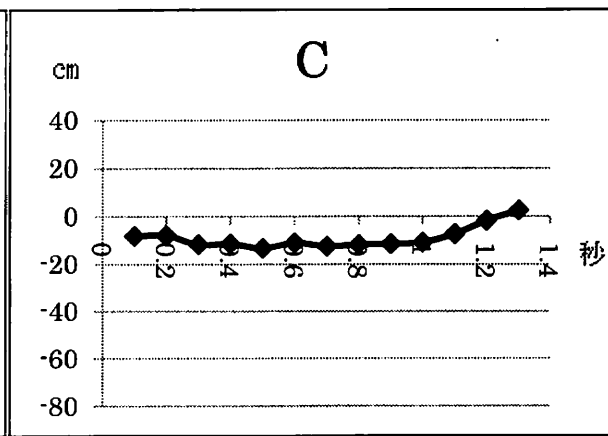


Fig.8 Cの水平方向

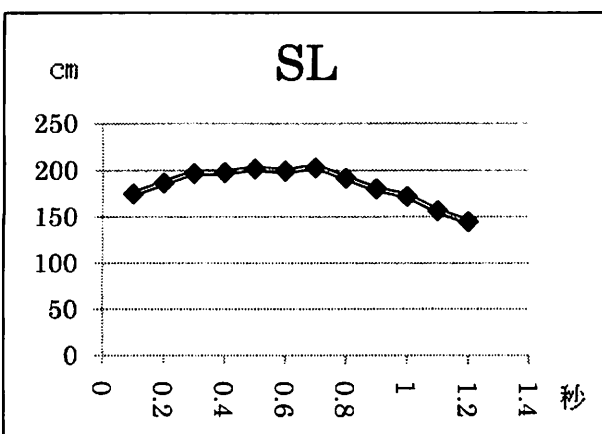


Fig.9 SLの鉛直方向

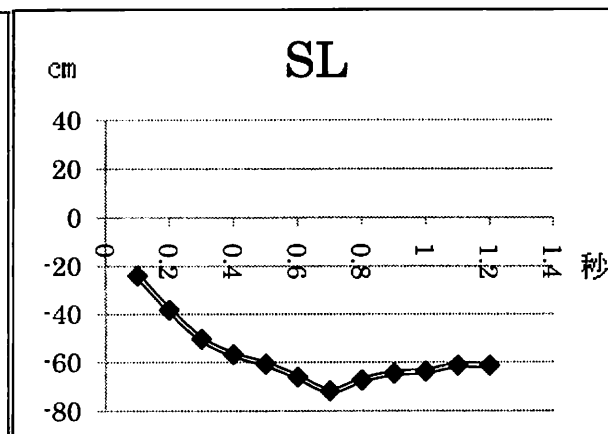


Fig.10 SLの水平方向

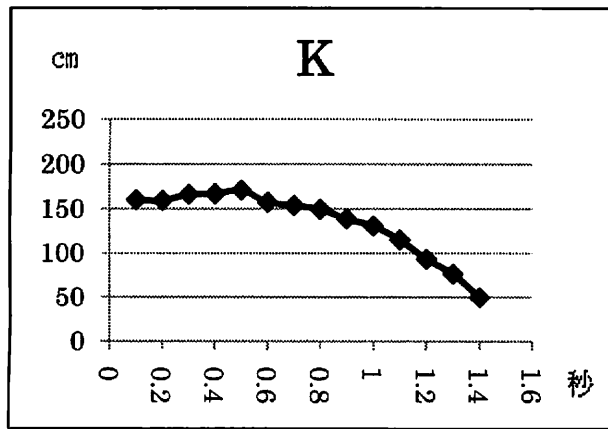


Fig.11 K の鉛直方向

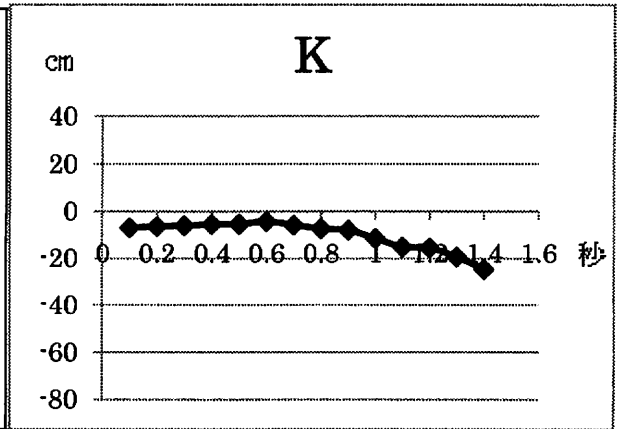


Fig.12 K の水平方向

速いストレートに関して Fig.3,4 のグラフを見てみると、鉛直方向では 0.7 秒付近から徐々に下に下がっていているが、水平方向へはほとんど変化していない。次に遅いストレートに関して Fig.5,6 のグラフを見てみると水平方向の変化は小さいが、鉛直方向の変化については 0.4 秒頃から徐々に下に下がっている。カーブについては、Fig 7,8 のグラフを見ると、鉛直方向に関しては、スタートから 0.5 秒まで上昇し、そこから 1.1 秒ぐらいまであまり変化がなく、1.1 秒を過ぎたあたりから下に落ち始めた。水平方向への変化は大きなものはみられなかったが、なだらかに右方向に変化している。スライダーに関しては、Fig 9,10 のグラフを見てみると、鉛直方向の軌道は変化が少ないが、水平方向に関しては、スタートから 0.7 秒付近まで大きくキャッチャーから見て左に大きく弧を描いている。最後にナックルに関しては、Fig 11,12 のグラフを見てみると、鉛直方向に関しては、最初からどんどん落ちていっている。また、水平方向に関しては、少し左に曲がっただけで大きな変化はあまりみられなかった。

4. 考察

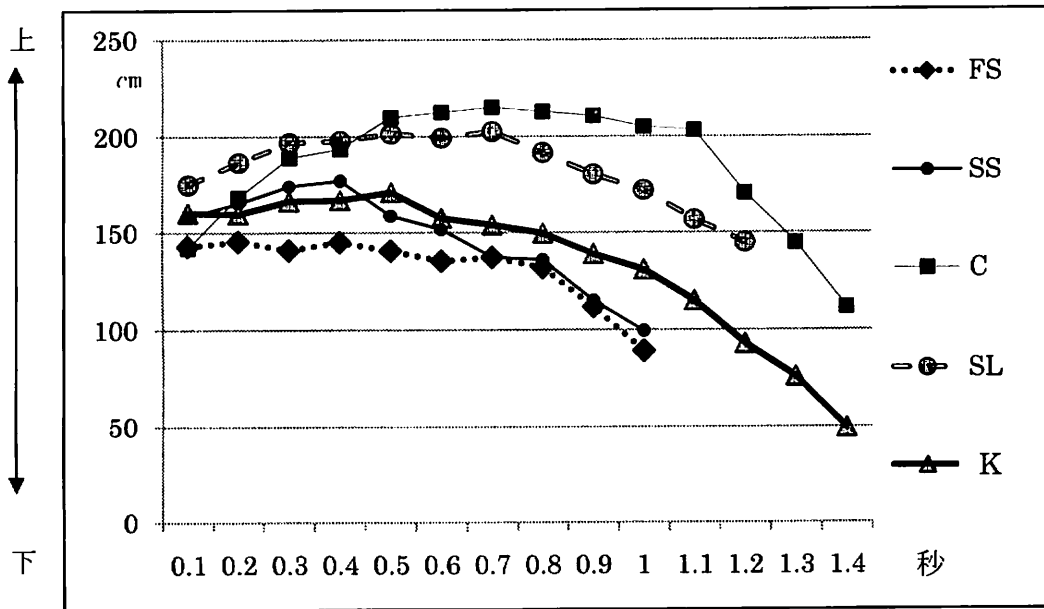


Fig.13 鉛直方向の各球種のグラフ

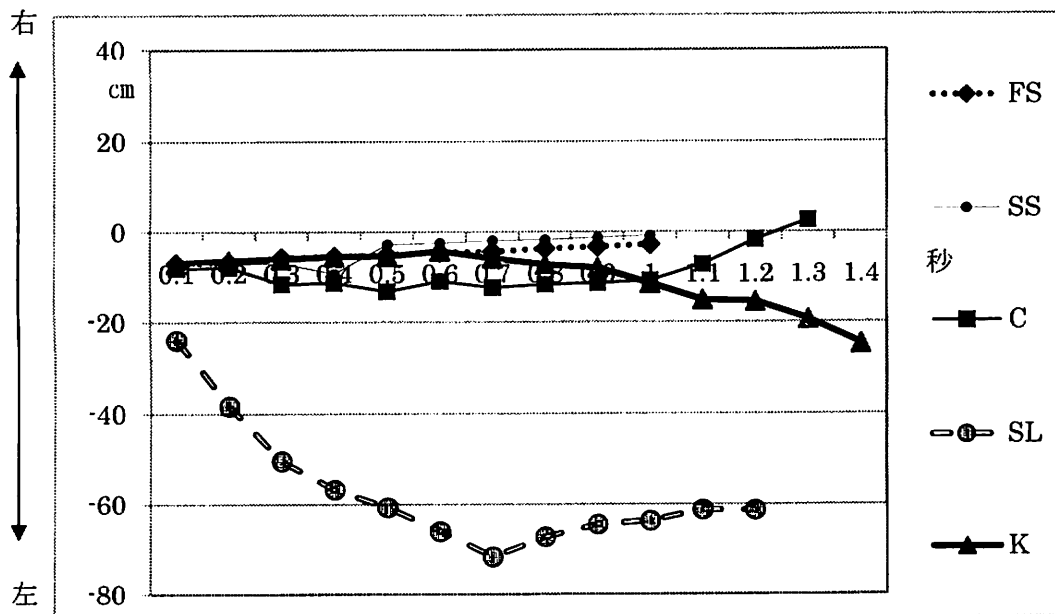


Fig.14 水平方向の各球種のグラフ

Fig.13 について、FS を基準として鉛直方向の比較をすると、SS は球速が遅いために FS よりも少し山なりの軌道となったと考えられる。C はボールを放った瞬間から大きく上昇しており、また球速が落ちた効果もあって 1.1 秒から急激に落ちたと考えられる。SL は FS とほぼ同じ軌道であると読み取れる。K は放った瞬間から上昇することなくだんだん落ちていくので、FS とは違って直進する部分はない。キャッチャーの感覚では手元でストンと落ちる感覚だが、実際にはそんなことはなく、だんだんと落ちていく。

次に、Fig.14 について FS を基準として水平方向の比較をすると、SS は FS とほぼ軌道が一致して

いる。C は全体的に左方向にずれたが、1.0.~1.1 秒で右方向へと曲がっている。SL は FS と大きく異なり、ボールを放った瞬間から大きく左に弧を描き始める。キャッチャーの感覚では手元に着た瞬間に曲がっている感覚であったが、実際には放った瞬間から曲がっていることがわかる。K は FS までとはいかないが、ほぼ直進している。

実際にグラフを読み取ると、キャッチャーの感覚と実際の軌道にはこういった多少のズレがあることがわかった。

これらの測定結果をふまえて、キャッチャーから見た軌道の変化と客観的に見た軌道の変化にズレが生じた原因は『キャッチャーからみると、ピッチャーが投げた直後はボールが遠くにあり、ボールを平面的にしかとらえることができず、ボールが変化していることをあまり認識できないが、手元に来た時はボールをあらゆる角度から立体的にとらえることができるのでボールが変化していることを鮮明に認識することができるようになる』と考えた。つまり、遠くにあるときボールはあまり変化していないように見えるが、手元に来た時に初めてボールが変化しているように見える、ということだ。これにより実際はなだらかに変化しているボールもキャッチャーからみると、手元に来た時に急に変化しているように見えるのだ、と我々は考えた。また、キャッチャーがボールを受けるとき実際に軌道をグラフ化した曲線よりも大きく変化しているように感じる原因については、キャッチャーは基本的に一番ストレートを多く受けるので、急にカーブなどの変化球を受けると、ストレートのまっすぐな軌道に目が慣れてしまっているため、目がストレートと同じ軌道でボールを追ってしまい、実際の軌道よりも大きく変化しているように見えるのではないかと我々は考えている。

5. 結果

客観的に見て実際はなだらかに変化しているボールもキャッチャーからみると、手元に来た時に急に変化しているように見えると我々は考えたが、実際に軌道をグラフ化した曲線は急に変化しているのではなく、なだらかであった。この原因は、キャッチャーがストレートのまっすぐな軌道に目が慣れてしまっているため、カーブなどの変化球の軌道をストレートの軌道と同じように目でボールを追う、なだらかに変化していても実際の軌道よりも大きく変化しているように見えるからである。

6. 参考文献

www.wikipedia.com

www.artisan.jpn.org/yk/kyushu.html

www.ise.ibaraki.ac.jp/~csl/BT/SekiguchiNaoto.pdf

www.ise.ibaraki.ac.jp/~csl/BT/SuzukiYuta.pdf

7. 謝辞

大阪市立大学大学院 理学研究科 糸山 浩 先生

中尾 憲一 先生

神田 展行 先生

荻尾 彰一 先生 をはじめとした数物系専攻の先生方

大阪府立大手前高校 物理科

文田 憲行 先生
今西 さやか 先生
蜂須賀 豊 先生
竹林 秀浩 先生
瀬町 良雄 先生
岡田 圭司 先生

体育科

ご協力いただきありがとうございました。

二重振り子

馬越 太田 辻井 中曽根 中打木

1. 緒言

私たちは、大阪市立大学で見せていただいた二重振り子に興味を持ち研究をすることにした。二重振り子とは、単振り子を二つ繋いだ剛体である。その振る舞いは、羽の落下運動、煙の動きなどともにごく身近に見ることができるカオス現象の一例となっている。

カオス (chaos) とは、「混沌」や「無秩序」という意味を持つ。現代においてこのカオスという言葉は科学の世界でも使われるようになってきており、複雑系科学を語る上では必須のものとなっている。しかしカオスというものについて具体的に定義することは難しい。その振る舞いは、決定論的法則に従うものの、積分法による解が得られないため、その将来性（及び過去）の振る舞いを知るには数値解析を用いざるを得ない。しかし、初期値敏感性ゆえに、ある時点における無限の精度が必要であるうえ、数値解析の過程で出る誤差によっても得られる値と真の値とのずれが次第に大きくなっていく。そのため予測が事実上不可能である。つまり、ある式であらわすことができるにもかかわらず、その式の解の振る舞いは、予想ができない非周期的な振る舞いということである。二重振り子は前述のようにカオス的な動きをするものの一例として知られている。

私たちは二重振り子の運動を観察する中で、二重振り子が規則正しく周期的な運動をする場合と、予測が難しくカオス的な運動をする場合があることに気付いた。では、どのような条件が満たされるときにカオス的な運動となるのであろうか。私達の観察では、二重振り子の2つの振り子の方向と鉛直方向との初期角度が小さい場合には、振り子は規則正しく運動し、初期角度が大きい場合には、振り子はカオス的な運動をするように見えた。そこで、私達は、初期角度とカオスの出現との間には何らかの関係があるのではないかと考えその関係について研究することにした。

研究を進めるために、「規則正しい運動」と「カオス的な運動」の2つの運動を客観的な方法で識別する必要がある。運動の観察を進めるうちに、下の振り子の回転が始まると二重振り子の運動が不規則になり、予想がつかない運動になることがわかってきた。私達は、「下の振り子が回転しない運動」を「規則正しい運動」とし、「下の振り子が回転する運動」を「カオス的な運動」と判断することにした。

2. 実験手順

(1) 単振り子

(a) シミュレーション

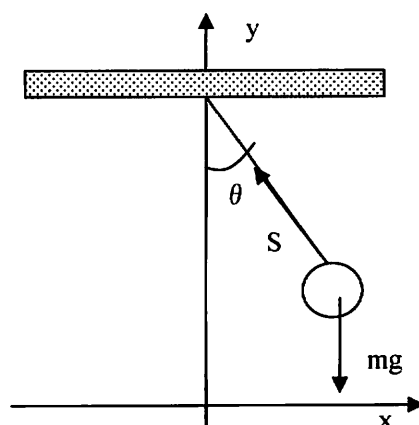


図1 単振り子の
シミュレーション図

図のように x 軸, y 軸をとり, 時刻 t 秒における角度を $\theta(t)$, 糸の長さを l, おもりの質量を m, 張力を S とおく。おもりの時刻 t における座標は $x(t) = l \sin \theta(t)$, $y(t) = l(1 - \cos \theta(t))$ とおける。その x 座標, y 座標それぞれについて, 2 回微分すると

$$a_x(t) = l \frac{d^2 \theta(t)}{dt^2} \cos \theta(t) - l \left(\frac{d\theta(t)}{dt} \right)^2 \sin \theta(t) \quad \dots \textcircled{1}$$

$$a_y(t) = l \frac{d^2 \theta(t)}{dt^2} \sin \theta(t) - l \left(\frac{d\theta(t)}{dt} \right)^2 \cos \theta(t) \quad \dots \textcircled{2}$$

この x 軸方向, y 軸方向の加速度から, x 軸, y 軸方向それぞれについて運動方程式を立てる。

$$\begin{aligned} F_x &= ma_x & -S \sin \theta(t) &= ma_x \\ F_y &= ma_y & S \cos \theta(t) - mg &= ma_y \end{aligned}$$

①②を代入すると,

$$\begin{aligned} -S \sin \theta(t) &= m \left(l \frac{d^2 \theta(t)}{dt^2} \cos \theta(t) - l \left(\frac{d\theta(t)}{dt} \right)^2 \sin \theta(t) \right) \\ S \cos \theta(t) - mg &= m \left(l \frac{d^2 \theta(t)}{dt^2} \sin \theta(t) - l \left(\frac{d\theta(t)}{dt} \right)^2 \cos \theta(t) \right) \end{aligned}$$

2 式より S を消去して

$$m \left(l \frac{d^2 \theta(t)}{dt^2} \right) = -mg \sin \theta$$

$$\Leftrightarrow l \frac{d^2 \theta(t)}{dt^2} = -g \sin(t)$$

この式を用いてシミュレーションした。

(b)実験

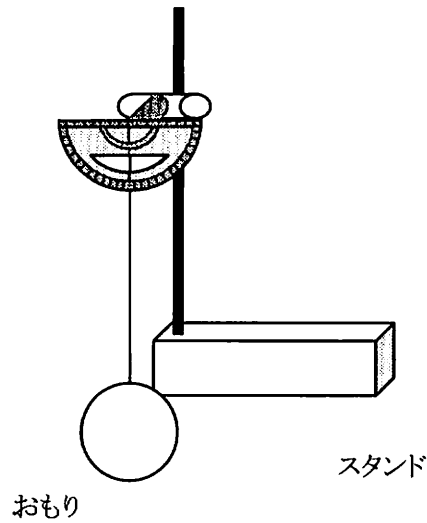


図 2 単振り子実験装置

実験器具;木製のおもり (重さ 51.6g 半径 2.25cm) テグス スタンド

ストップウォッチ (タニタ製) 分度器

図 2 のように実験器具を組み立て、糸の長さを 20cm(おもりの重心から支点までの距離)にして、分度器を用いて初期角度を測り、まっすぐ振り子がふれるようにそっと手を放し、10 往復の時間をストップウォッチで計った。これを 3 回行い、1 往復の時間の平均を求めた。これを $5^\circ \sim 80^\circ$ まで 5° 単位ずつ行った。同様の実験を糸の長さを 50cm, 100cm で行った。

(2)二重振り子

(a)シミュレーション(質点)

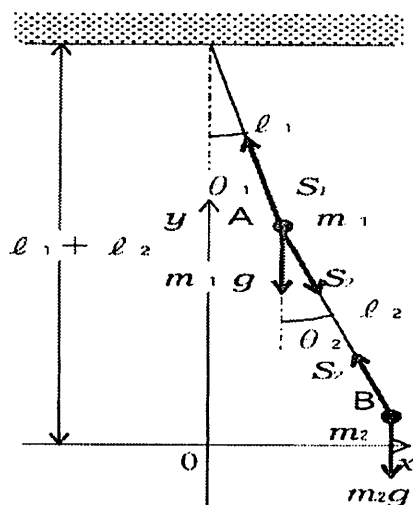


図 3 二重振り子のシミュレーション

物体 A, 物体 B の座標 $(x_1, y_1), (x_2, y_2)$ とする。

$$x_1 = l_1 \sin \theta_1$$

$$y_1 = (l_1 + l_2) - l_1 \cos \theta_1$$

$$x_2 = l_1 \sin \theta_2 + l_2 \sin \theta_2$$

$$y_2 = (l_1 + l_2) - l_1 \cos \theta_1 - l_2 \cos \theta_2$$

次に, それぞれ時刻 t について二回微分して A, B それぞれの加速度の x 成分, y 成分が得られる。

$$a_{1x} = \frac{d^2\theta_1}{dt^2} l_1 \cos \theta_1 - \left(\frac{d\theta_1}{dt} \right)^2 l_1 \sin \theta_1$$

$$a_{1y} = \frac{d^2\theta_1}{dt^2} l_1 \sin \theta_1 + \left(\frac{d\theta_1}{dt} \right)^2 l_1 \cos \theta_1$$

$$a_{2x} = \frac{d^2\theta_1}{dt^2} l_1 \cos \theta_1 - \left(\frac{d\theta_1}{dt} \right)^2 l_1 \sin \theta_1 + \frac{d^2\theta_2}{dt^2} l_2 \cos \theta_2 - \left(\frac{d\theta_2}{dt} \right)^2 l_2 \sin \theta_2$$

$$a_{2y} = \frac{d^2\theta_1}{dt^2} l_1 \sin \theta_1 + \left(\frac{d\theta_1}{dt} \right)^2 l_1 \cos \theta_1 + \frac{d^2\theta_2}{dt^2} l_2 \sin \theta_2 + \left(\frac{d\theta_2}{dt} \right)^2 l_2 \cos \theta_2$$

また, 物体 A, B にはたらく力 $(F_{1x}, F_{1y}), (F_{2x}, F_{2y})$ は

$$F_{1x} = -S_1 \sin \theta + S_2 \sin \theta_2$$

$$F_{1y} = -m_1 g + S_1 \cos \theta_1 - S_2 \cos \theta_2$$

$$F_{2x} = -S_2 \sin \theta_2$$

$$F_{2y} = -m_2 g + S_2 \cos \theta_2$$

これらを用いて運動方程式 $m_1 a_{1x} = F_{1x}, m_1 a_{1y} = F_{1y}, m_2 a_{2x} = F_{2x}, m_2 a_{2y} = F_{2y}$ を作る。

$$m_1 \left\{ \frac{d^2\theta_1}{dt^2} l_1 \cos \theta_1 - \left(\frac{d\theta_1}{dt} \right)^2 l_1 \sin \theta_1 \right\} = -S_1 \sin \theta + S_2 \sin \theta_2$$

$$m_1 \left\{ \frac{d^2\theta_1}{dt^2} l_1 \sin \theta_1 + \left(\frac{d\theta_1}{dt} \right)^2 l_1 \cos \theta_1 \right\} = -m_1 g + S_1 \cos \theta_1 - S_2 \cos \theta_2$$

$$m_2 \left\{ \frac{d^2\theta_1}{dt^2} l_1 \cos \theta_1 - \left(\frac{d\theta_1}{dt} \right)^2 l_1 \sin \theta_1 + \frac{d^2\theta_2}{dt^2} l_2 \cos \theta_2 - \left(\frac{d\theta_2}{dt} \right)^2 l_2 \sin \theta_2 \right\} = -S_2 \sin \theta_2$$

$$m_2 \left\{ \frac{d^2\theta_1}{dt^2} l_1 \sin\theta_1 + \left(\frac{d\theta_1}{dt} \right)^2 l_1 \cos\theta_1 + \frac{d^2\theta_2}{dt^2} l_2 \sin\theta_2 + \left(\frac{d\theta_2}{dt} \right)^2 l_2 \cos\theta_2 \right\}$$

$$= -m_2 g + S_2 \cos\theta_2$$

以下、物体 A, B の角速度および角加速度を

$$\omega_1 = \frac{d\theta_1}{dt}, \omega_2 = \frac{d\theta_2}{dt}, \alpha_1 = \frac{d^2\theta_1}{dt^2}, \alpha_2 = \frac{d^2\theta_2}{dt^2} \text{ とする。}$$

上の運動方程式を解くと、時刻 t における角度 $\theta_1(t), \theta_2(t)$, 角速度 $\omega_1(t), \omega_2(t)$ が確定すると、角加速度 $\alpha_1(t), \alpha_2(t)$ が求められる。

$$l_{21} = \frac{l_2}{l_1}, \omega_0 = \frac{g}{l_1}, \mu = \frac{m_2}{m_1 + m_2}$$

$$A_1 = -\mu l_{21} \cos(\theta_1(t) - \theta_2(t))$$

$$B_1 = -\mu l_{21} \omega_2(t)^2 \sin(\theta_1(t) - \theta_2(t)) - \omega_0 \sin\theta_1(t)$$

$$A_2 = -\frac{1}{l_{21}} \cos(\theta_1(t) - \theta_2(t))$$

$$B_2 = -\frac{1}{l_{21}} \omega(t)^2 \sin(\theta_1(t) - \theta_2(t)) - \frac{\omega_0}{l_{21}} \sin\theta_2(t) \text{ とすると,}$$

$$\alpha_1(t) = \frac{A_1 B_2 + B_1}{1 - A_1 A_2}$$

$$\alpha_2(t) = \frac{A_2 B_1 + B_2}{1 - A_1 A_2} \quad \dots(A)$$

(A) 式を用いて、「初等的なシミュレーション」と「高次効果を取り入れたシミュレーション」を行う。

(a-1) 初等的なシミュレーション

微小時間 Δt の間、物体 A と物体 B は、等角加速度運動するものと近似すると、微小時間 Δt 後の角度と角加速度は次のようになる。

$$\theta_1(t + \Delta t) = \theta_1(t) + \omega_1(t) \times \Delta t + \frac{1}{2} \alpha_1(t) \times \Delta t^2$$

$$\theta_2(t + \Delta t) = \theta_2(t) + \omega_2(t) \times \Delta t + \frac{1}{2} \alpha_2(t) \times \Delta t^2$$

$$\omega_1(t + \Delta t) = \omega_1(t) + \alpha_1(t) \times \Delta t$$

$$\omega_2(t + \Delta t) = \omega_2(t) + \alpha_2(t) \times \Delta t \quad \dots(B)$$

A と B よりある瞬間の角度、角速度、角加速度がわかれば、順次、微小時間後の角度、角速度、角加速度を求めることができる。

(a-2) 高次効果を取り入れたシミュレーション

角度 θ (0 次)、角速度 ω (1 次)、角加速度 α (2 次) より高次の効果を取り入れたシミュレーションを考える。単位時間あたりの角加速度の変化(角加速度変化率)を β と表す。時刻 t における角速度の変化率 $\beta(t)$ とすると、

$$\beta(t) = \frac{d\alpha}{dt} = \frac{d^2\omega}{dt^2} = \frac{d^3\theta}{dt^3}$$

と定義される。さらに角加速度の変化率 $\beta(t)$ の単位時間あたりの変化(角加速度の変化率の変化率)を γ と表す。時刻 t における角加速度の変化率の変化率 $\gamma(t)$ は、

$$\gamma(t) = \frac{d\beta}{dt} = \frac{d^2\alpha}{dt^2} = \frac{d^3\omega}{dt^3} = \frac{d^4\theta}{dt^4}$$

と定義される。

初等的な方法の(B)で求めた角度、角速度を、仮の角度、仮の角速度とし、 $t + \Delta t$ における仮の角度、仮の角速度を $\theta_{k1}(t + \Delta t)$, $\theta_{k2}(t + \Delta t)$, $\omega_{k1}(t + \Delta t)$, $\omega_{k2}(t + \Delta t)$ とする。また、(B)において、 Δt を $-\Delta t$ として求めた時刻 $t - \Delta t$ における仮の角度、仮の角速度を $\theta_{k2}(t - \Delta t)$, $\theta_{k1}(t - \Delta t)$, $\omega_{k2}(t - \Delta t)$ とする。

上で求めた仮の角度、仮の角速度を(A)に代入して、 $t + \Delta t$, $t - \Delta t$ における仮の角加速度 $\alpha_{k1}(t + \Delta t)$, $\alpha_{k2}(t + \Delta t)$, $\alpha_{k1}(t - \Delta t)$, $\alpha_{k2}(t - \Delta t)$ を求める。

上の仮の角加速度を用いて、角加速度の変化率 $\beta_1(t)$, $\beta_2(t)$ を次のように求める。

$$\beta_1(t) = \frac{\beta_{k1}(t + (\Delta t/2)) + \beta_{k1}(t - (\Delta t/2))}{2};$$

$$= \frac{\frac{\alpha_{k1}(t + \Delta t) - \alpha_1(t)}{\Delta t} + \frac{\alpha_1(t) - \alpha_{k1}(t - \Delta t)}{\Delta t}}{2}$$

$$\beta_2(t) = \frac{\beta_{k2}(t + (\Delta t/2)) + \beta_{k2}(t - (\Delta t/2))}{2};$$

$$= \frac{\frac{\alpha_{k2}(t + \Delta t) - \alpha_2(t)}{\Delta t} + \frac{\alpha_2(t) - \alpha_{k2}(t - \Delta t)}{\Delta t}}{2}$$

上の仮の角加速度を用いて、角加速度の変化率 $\gamma_1(t)$, $\gamma_2(t)$ を次のように求める。

$$\gamma_1(t) = \frac{\beta_{k1}(t + (\Delta t/2)) - \beta_{k1}(t - (\Delta t/2))}{\Delta t};$$

$$= \frac{\frac{\alpha_{k1}(t + \Delta t) - \alpha_1(t)}{\Delta t} - \frac{\alpha_1(t) - \alpha_{k1}(t - \Delta t)}{\Delta t}}{\Delta t}$$

$$\gamma_2(t) = \frac{\beta_{k2}(t + (\Delta t/2)) - \beta_{k2}(t - (\Delta t/2))}{\Delta t};$$

$$= \frac{\frac{\alpha_{k2}(t + \Delta t) - \alpha_2(t)}{\Delta t} - \frac{\alpha_2(t) - \alpha_{k2}(t - \Delta t)}{\Delta t}}{\Delta t}$$

$\alpha(t)$, $\beta(t)$, $\gamma(t)$ を用いて, $t + \Delta t$ における角度 $\theta(t + \Delta t)$, 角加速度 $\omega(t + \Delta t)$ を次のように計算する。

$$\theta_1(t + \Delta t) = \theta_1(t) + \frac{1}{1!} \omega_1(t) \Delta t + \frac{1}{2!} \alpha_1(t) \Delta t^2 + \frac{1}{3!} \beta_1(t) \Delta t^3 + \frac{1}{4!} \gamma_1(t) \Delta t^4$$

$$\theta_2(t + \Delta t) = \theta_2(t) + \frac{1}{1!} \omega_2(t) \Delta t + \frac{1}{2!} \alpha_2(t) \Delta t^2 + \frac{1}{3!} \beta_2(t) \Delta t^3 + \frac{1}{4!} \gamma_2(t) \Delta t^4$$

$$\omega_1(t + \Delta t) = \omega_1(t) + \frac{1}{1!} \alpha_1(t) \Delta t + \frac{1}{2!} \beta_1(t) \Delta t^2 + \frac{1}{3!} \gamma_1(t) \Delta t^3$$

$$\omega_2(t + \Delta t) = \omega_2(t) + \frac{1}{1!} \alpha_2(t) \Delta t + \frac{1}{2!} \beta_2(t) \Delta t^2 + \frac{1}{3!} \gamma_2(t) \Delta t^3$$

これらより, 4 次までの効果を取り入れたシミュレーションを行うことができる。

(b)実験

実験器具; 二重振り子(アメリカ製 剛体)重さ 383.8 g 長さ 35mm×38mm×52 mm

縦横方眼用紙, C 型クランプ, 木片

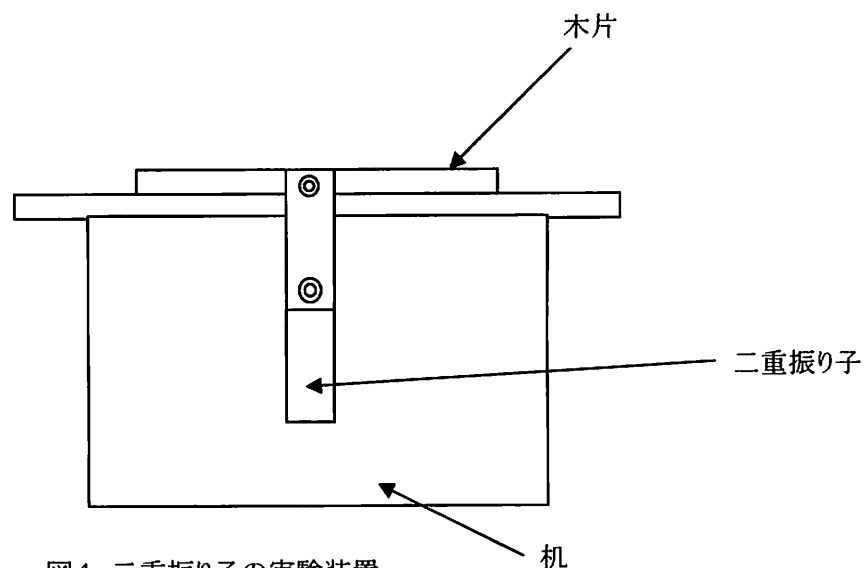


図4 二重振り子の実験装置

- ① 図4のように実験器具を組み立てた。二重振り子はねじで木材に固定した。二重振り子の支点が振動しないように木材を机にC型クランプで固定した。
- ② 上の振り子をL1, 下の振り子をL2とする。図5のようにL1とL2の角度を, -135 度, -90 度, 0 度, 90 度, 135 度, 180 度と初期角度を設定した。L1の鉛直方向からの角度を徐々に上げて, カオスが起る(L2が一回転する)角度を調べた。

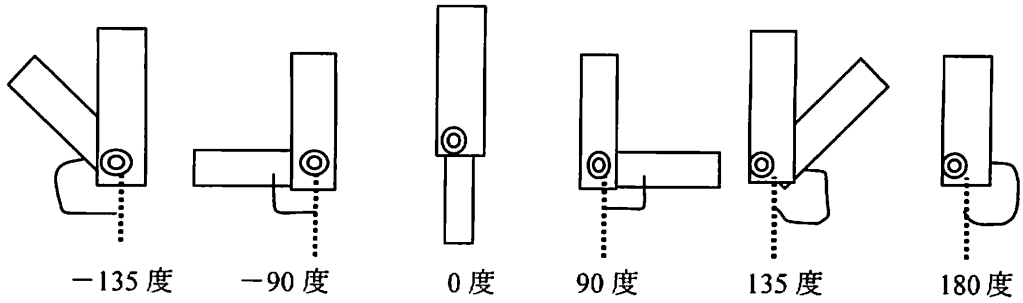


図 5 L1 と L2 の角度の取り方

3. 実験結果

(1) 単振り子

単振り子の実験結果とシミュレーション結果を次の表に示す。

尚、縦軸を周期、横軸を初期角度にとり、糸の長さが 20cm, 50cm, 100cm の場合をそれぞれ図 6, 7, 8 に示した。それぞれの糸の長さでの周期を表 1, 2, 3 に示した。

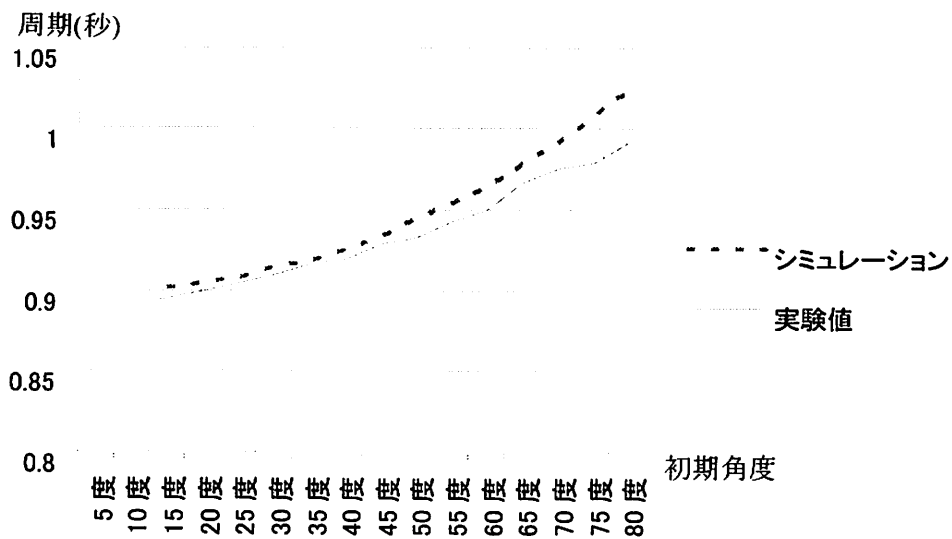


図 6 20cm の周期

単振り子 20cm		5 度	10 度	15 度	20 度	25 度	30 度	35 度
シミュレーション				0.902	0.904	0.908	0.914	0.92
実験値			0.892	0.895	0.9	0.904	0.91	0.917
40 度	45 度	50 度	55 度	60 度	65 度	70 度	75 度	80 度
0.926	0.934	0.944	0.954	0.964	0.978	0.992	1.008	1.024
0.92	0.929	0.933	0.943	0.95	0.967	0.975	0.979	0.992

表 1 20cm の値

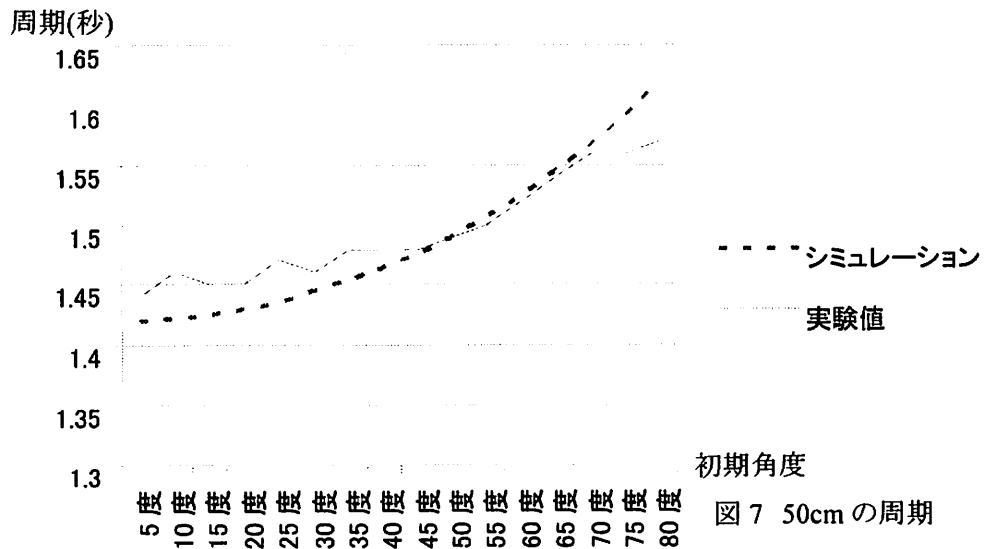


表 2 50cm の値

単振り子 50 cm		5 度	10 度	15 度	20 度	25 度	30 度	35 度
シミュレーション		1.42	1.422	1.426	1.43	1.436	1.446	1.454
実験値		1.44	1.46	1.45	1.45	1.47	1.46	1.48
40 度	45 度	50 度	55 度	60 度	65 度	70 度	75 度	80 度
1.464	1.476	1.49	1.506	1.524	1.544	1.566	1.59	1.618
1.48	1.48	1.49	1.5	1.52	1.54	1.56	1.56	1.57

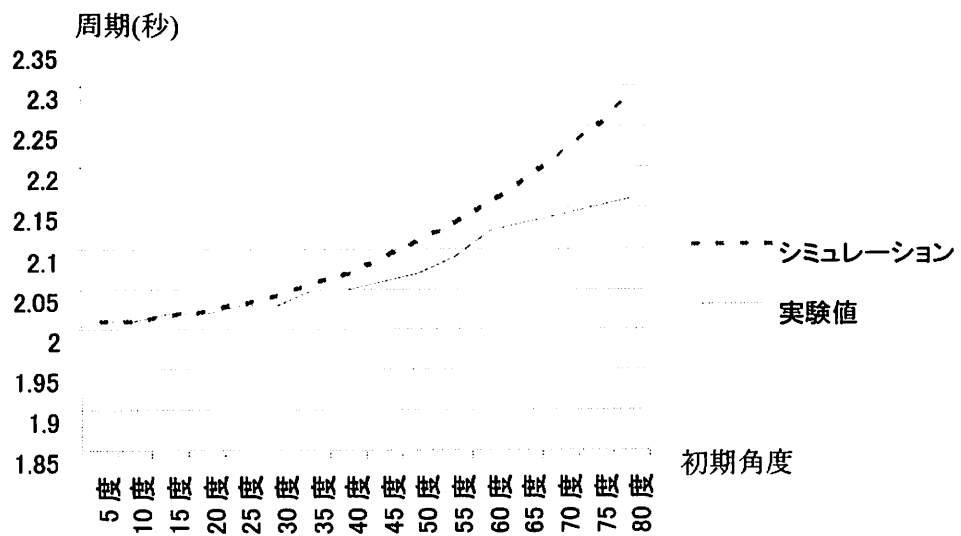


表 3 100cm の値

単振り子 100 cm		5 度	10 度	15 度	20 度	25 度	30 度	35 度
シミュレーション		2.008	2.01	2.016	2.022	2.032	2.042	2.056
実験値		2.01	2.01	2.02	2.02	2.03	2.03	2.05
40 度	45 度	50 度	55 度	60 度	65 度	70 度	75 度	80 度
2.07	2.088	2.108	2.13	2.156	2.184	2.214	2.248	2.286
2.05	2.06	2.07	2.09	2.12	2.13	2.14	2.15	2.16

これらの実験結果から、初期角度が大きくなると周期も大きくなり、シミュレーション値と実験値の差も大きくなる傾向が見られた。また、40 度までは両者の値の差は図 9 のようになり、比較的誤差が小さくなる傾向が見られた。

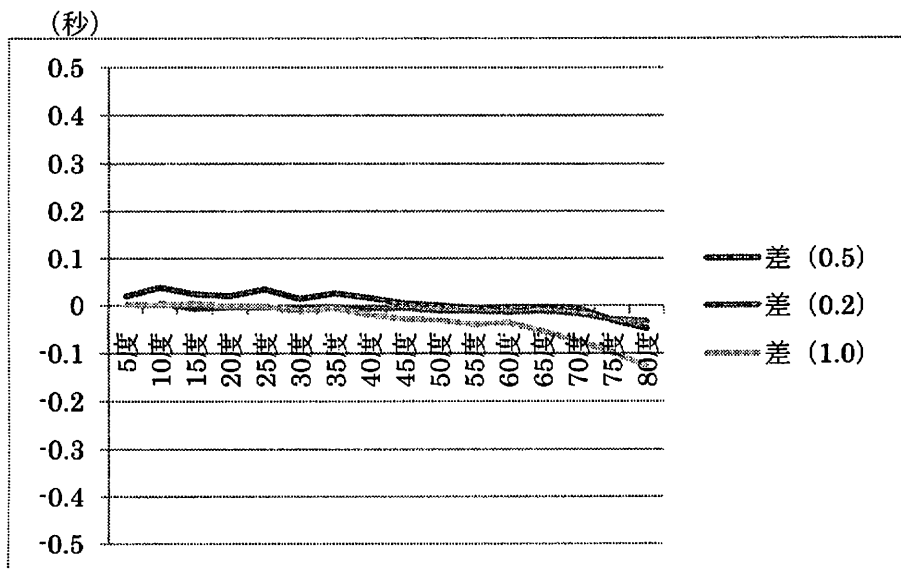


図 9 図 6～8 のシミュレーション値と実験値の差

シミュレーション結果はエネルギー保存を満たしているかについて

○初等的なシミュレーション

θ (0 次), ω (1 次), α (2 次)までの効果のシミュレーション

図 1 は, おもりの質量 1,0kg, 糸の長さ 1,0m, 初期角度 30° の単振子の初等的なシミュレーションにおける 2,5 周期分の力学的エネルギーの変化である(縦軸の単位はジュール)。このように, 振り子は半周期ごとに力学的エネルギーが周期的に増加しており, この間に, 力学的エネルギーが 1,31J から 1,38J へと増加している。初等的なシミュレーションの精度は現象の考察には不十分である。

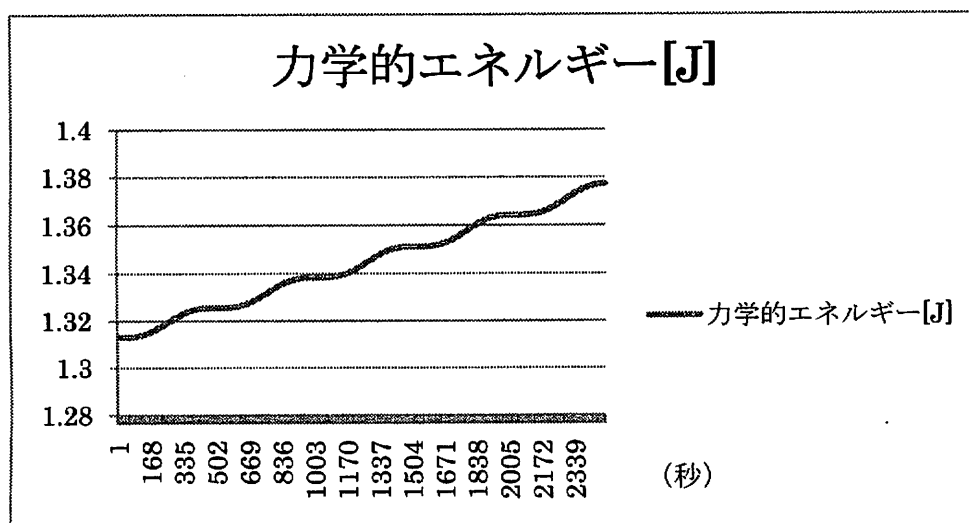


図 10 初等的なシミュレーションにおける力学的エネルギーの変化

○3 次までの効果を取り入れたシミュレーション

θ (0 次), ω (1 次), α (2 次), β (3 次)までの効果を取り入れたシミュレーション

図 2 は, おもりの質量 1,0kg, 糸の長さ 1,0m, 初期角度 30° の単振子の 3 時までの効果を取り入れたシミュレーションにおける 2,5 周期分の力学的エネルギーの変化である(縦軸の単位はジュール)。力学的エネルギーは半周期ごとに増減を繰り返し, 1,312957J から 1,32963J の間で振動しているが, 初等的なシミュレーションと比較すると, かなりの精度が上がっていることがわかる。

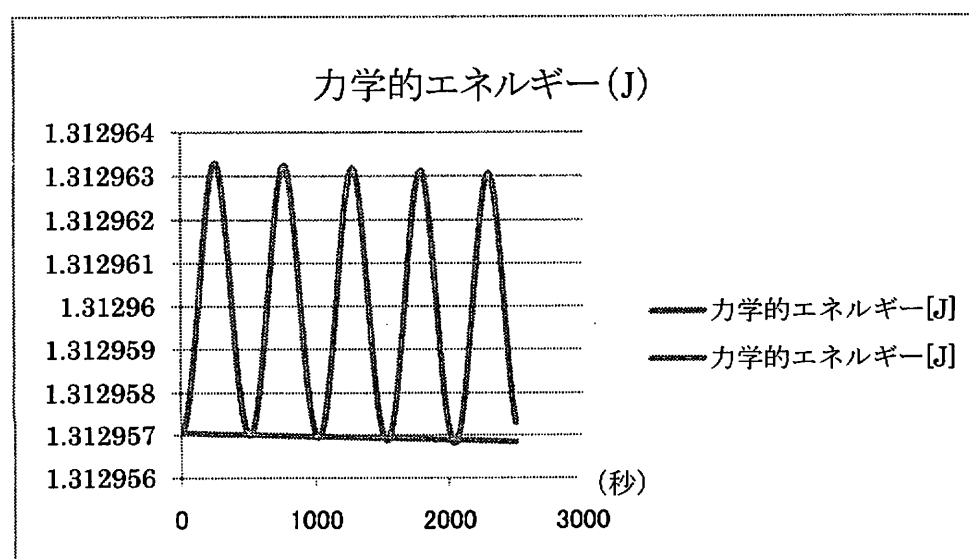


図 11 3 次までの効果を取り入れたシミュレーションにおける力学的エネルギーの変化

○4 次までの効果を取り入れたシミュレーション

θ (0 次), ω (1 次), α (2 次), β (3 次), γ (4 次)までの効果を取り入れたシミュレーション

図 3 は、おもりの質量 1,0kg, 糸の長さ 1,0m, 初期角度 30° の単振子の 4 次までの効果を取り入れたシミュレーションにおける 2,5 周期分の力学的エネルギーの変化である。(縦軸の単位はジュール)力学的エネルギーは、1,312957J でほぼ一定になっており、3 次までのシミュレーションのような半周期ごとの力学的エネルギーの増減はなくなっており、精度が上がっていることがわかる。このように、4 次までの効果を取り入れたことで、十分に信頼性の高いシミュレーションになっていることがわかる。

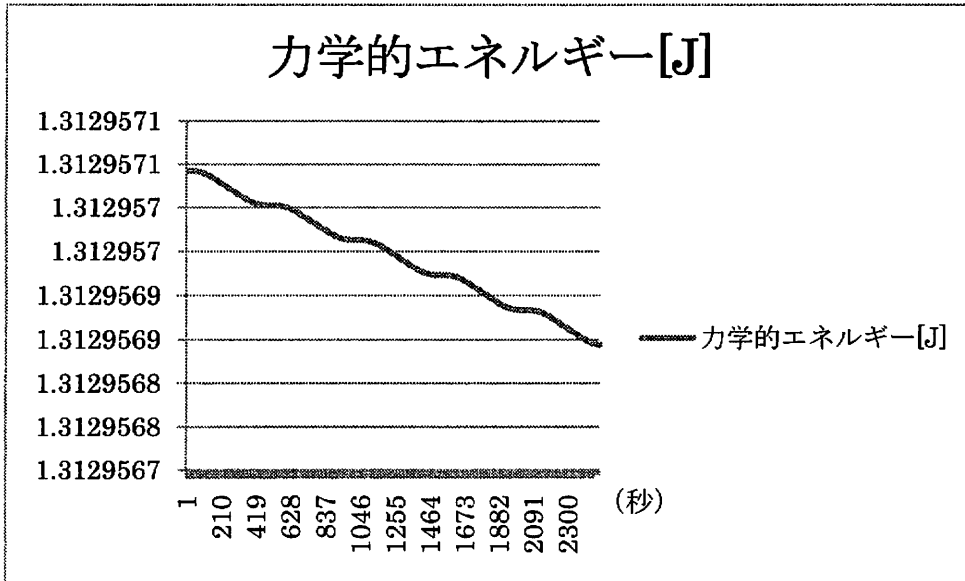


図 12 4 次までの効果を取り入れたシミュレーションにおける力学的エネルギーの変化
 角度が小さいとき、シミュレーション結果は単振子の周期の式と一致しているかについて
 (例)糸の長さを 2,45 とした単振子のシミュレーション結果の周期 T は、 $T=3,142$ であるが、これは、角度が小さいときの単振子の $T=2\pi\sqrt{g/l}$ を用いた結果 $T=3,142[s]$ と完全に一致している。

(2) 二重振り子

シミュレーション結果を示す。

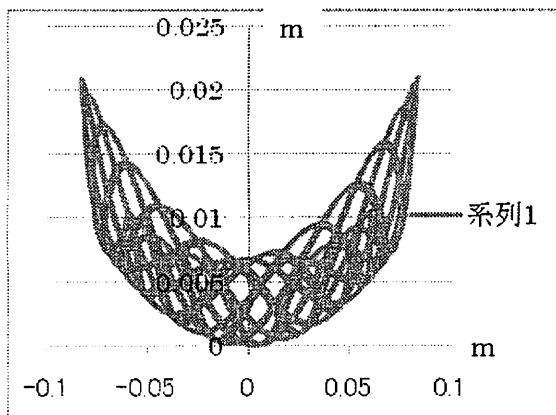


図 13 二重振り子を直線形にした時の初期角度 20 度でのシミュレーション

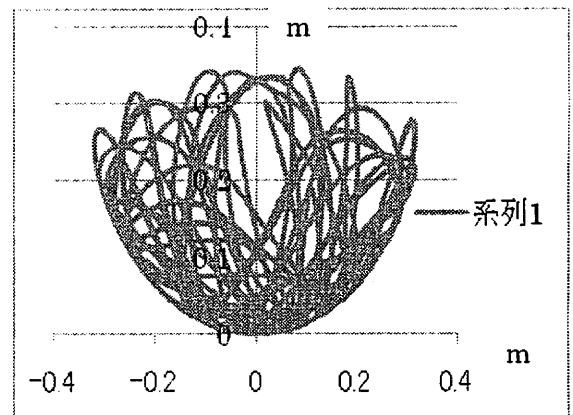


図 14 二重振り子を直線形にした時の初期角度 92 度でのシミュレーション

L2 の角度-135, -90, 0, 90, 135, 180 度それぞれについて実験を行った。表 4~9 に実験結果を順に示す。表の○, ×はカオス(下の振り子が上の振り子との支点を中心に一回転以上すること)が起こったかどうかを表す。また、各表の 1 行目の角度は L1 の初期角度を表す。

-135 度	70 度	65 度	62.5 度	60 度
1 回目	○	○	○	×
2 回目	○	○	○	×
3 回目	○	○	×	×
4 回目	○	○	○	×
5 回目	○	○	×	×
6 回目	○	○	×	×
7 回目	○	×	○	×
8 回目	○	○	○	×
9 回目	○	○	×	×
10 回目	○	○	○	×

表 4 -135 度におけるL1の回転角度

-90 度	60 度	57.5 度	55 度
1 回目	○	○	×
2 回目	○	○	×
3 回目	○	×	×
4 回目	○	○	×
5 回目	○	×	×
6 回目	○	×	×
7 回目	○	○	×
8 回目	○	○	×
9 回目	○	×	×
10 回目	○	○	×

表 5 -90 度におけるL1の回転角度

0 度	110 度	105 度	100 度
1 回目	○	○	×
2 回目	○	×	×
3 回目	×	×	×
4 回目	○	○	×
5 回目	×	×	×
6 回目	○	○	×
7 回目	○	○	×
8 回目	○	○	×
9 回目	○	○	×
10 回目	○	×	×

表 6 0 度におけるL1の回転角度

90 度	50 度	47.5 度	45 度
1 回目	○	○	×
2 回目	×	×	×
3 回目	×	○	×
4 回目	○	×	×
5 回目	○	○	×
6 回目	○	×	×
7 回目	×	○	×
8 回目	○	×	×
9 回目	○	○	×
10 回目	×	×	×

表 7 90 度におけるL1の回転角度

135 度	30 度	27.5 度	25 度
1 回目	○	○	×
2 回目	○	×	×
3 回目	×	○	○
4 回目	○	○	×
5 回目	○	○	×
6 回目	○	○	×
7 回目	○	○	×
8 回目	○	○	×
9 回目	○	×	×
10 回目	○	○	×

表 8 135 度におけるL1の回転角度

180 度	25 度	20 度	17.5 度
1 回目	○	×	×
2 回目	○	○	×
3 回目	○	○	×
4 回目	×	×	×
5 回目	○	×	×
6 回目	×	○	×
7 回目	○	○	×
8 回目	○	×	×
9 回目	○	×	×
10 回目	○	○	×

表 9 180 度におけるL1の回転角度

これらの実験結果から二重振り子のカオスが起り始める時の L2 の角度と L1 の角度は下の表 10 のようになる。

L2	-135 度	-90 度	0 度	90 度	135 度	180 度
L1	62.5 度	57.5 度	105 度	47.5 度	27.5 度	20 度

表 10 表 4～9 のまとめ

表 10 から L2 が 0 度のときを除いて、L2 が大きくなるにつれ、L1 も大きくなる傾向が見られた。

4. 考察

単振り子において、角度の時間微分の4次までの効果を導入することで、エネルギー保存則や振り子の周期の式と矛盾せず、実験値に近いシミュレーションをつくることができた。また、シミュレーションと実験の双方で、周期は初期角度を大きくするにつれて徐々に長くなった(図 6,7,8)。今回は、糸と糸の支点の摩擦と空気抵抗を考慮していないため、計測開始時の角度の振幅より計測終了時の角度の振幅が小さくなり、また、開始時の角度が大きくなるほど終了時との角度の差が大きくなった。このことから、実験値は初期角度が大きくなるほどシミュレーション値とのずれが大きくなると考えられる(図 9)。実験値をシミュレーション値に近づけるには、より空気抵抗を受けにくい金属製の小さなおもりを使用すればよいと考えられる。

二重振り子については、シミュレーションから初期角度が小さい時には周期性があり(図 13)、これは仮説と一致している。初期角度が大きい時は、グラフの同じ点を同じ速度で二度と通らないという特徴を示し、周期性はないことが読み取れた(図 14)。二重振り子の剛体を用いての実験において、L1 と L2 の固定角度が徐々に大きくなると、L1 と鉛直方向のなす初期角度がより小さい角度でもカオスが起った。それは、L2 の位置エネルギーが大きくなるので、角度が小さくても L2 を回転させるのに十分な力学的エネルギーが得られるからだと判断した。しかし、二重振り子を直線形から始めた場合、最も初期角度を大きくしなければ、L2 は回転しなかった(表 6:0 度から開始した場合)。直線形の時は軌道が単振り子のように振る舞うことに着眼したが、今回、その理由を解明するにはいたらなかった。直線形から始める場合を除き、二重振り子の回転に要する L1 と鉛直方向のなす初期角度は、L1 と L2 の固定角度が大きくなるにしたがって、小さくなるという結果を示した。また、L2 が一回以上回転するとその振る舞いはランダムであり軌道の予測はできなかったが、回転が起こるまでの L2 の軌道は、シミュレーションと同様に仮説は成り立ち、周期性のある予測可能な振る舞いを行った。

5. 結論

単振り子の周期を示す公式「 $T=2\pi\sqrt{l/g}$ 」は初期角度の大きさが十分に小さいときに近似的に成り立つ公式である。今回、実測値とシミュレーション値においてその初期角度を大きくすると周期が単調に長くなり、一定にならなかったことは適当である。また、二重振り子の実験では L1 と L2 の角度が 0 度の時、特にカオスが生じにくいことがわかった。時間の都合もありその理由を解明するには至らなかった。しかし、この場合を除き、L1 と L2 の固定角度が大きくなれば、L1 と鉛直方向のなす角度がより小さい角度でも L2 は回転するという関係性がわかった。次なる課題としては、測定の回数や実験器具の精度を十分に配慮し、なぜ直線形の場合にこのような結果に至ったのかを二重振り子の仕組みから見直し、その解明に向けて取り組んでいきたい。

6. 参考文献

山本将史著『Excelで学ぶ物理シミュレーション入門』オーム社 2007 年

7. 謝辞

大手前高校

文田 憲行先生
蜂須賀 豊先生
今西 さやか先生
竹林 秀浩先生
他 多くの先生方

大阪市立大学大学院 理学研究科

糸山 浩先生
中尾 憲一先生
神田 展行先生
萩尾 彰一先生
他 多くの先生方

私たちの研究への多大なるご協力, またたくさんのご提言をいただき本当にありがとうございました。

CPU を創ろう

北村優佳 竹本有紀 中尾優花 川原匡史 川本雄士 阪下真紀 佐藤和叶
瀬口友介 月本弾 中司慎太郎 花盛敬輝 南出大輝 山本文迅

1. 緒言

はじめに、CPU (Central Processing Unit) とは中央処理装置、制御装置、演算論理装置、記憶装置からなるコンピュータの本体のことで、ALU (Arithmetic Logic Unit)、レジスタ、プログラムカウンタ、メモリ、コントローラの五つの部門で構成されている。ALU は様々な演算を行うための回路である。コンピュータが電子計算機と呼ばれているように、ALU なしには何もできない。レジスタは CPU 動作中のデータの記憶を担っている回路である。レジスタ間やレジスタから ALU へのデータの転送や変換は、CPU 動作の核心である。プログラムカウンタは、クロック信号 CK に従って、プログラムを 1 つずつ進めるためのカウンタ (計数回路) である。単純な CPU では、クロック信号の数を数えることになる。分岐命令を可能にするためには、プログラムカウンタに指示された値を書き込み、指定された番地まで命令をジャンプさせることも必要になる。メモリはプログラムを格納する記憶回路である。指定された番地にプログラムを書き込み、プログラムカウンタの指示する番地の命令を読み出す。一般の CPU ではプログラムだけでなくデータもメモリに格納するが、本研究ではプログラムのみを格納することにする。そのため、メモリはプログラム実行中、つまり CPU 動作中は読み出し専用となる。なお、プログラムは CPU 停止中に書き込む。命令は、オペレーションコード Op と呼ばれる操作を表す数字と、イミディエイトデータ Im と呼ばれるデータ (数) を表す数字からなる。コンピュータが扱う命令は、すべて「0」と「1」の数で表される。コントローラは、読み出したプログラムに従い、制御信号によって ALU、メモリ、プログラムカウンタに指示を送り、CPU を動作させる司令塔である。

次に、デジタル回路で用いられる基本素子について説明する。今回使用した基本素子は、図 1 にある六素子、及び、D フリップフロップ素子、シュミットトリガ NOT 素子である。以下、「0」は低電位、「1」は高電位を表す。

AND 素子

$$X=A \cdot B$$

A	B	X
0	0	0
0	1	0
1	0	0
1	1	1



OR 素子

$$X=A+B$$

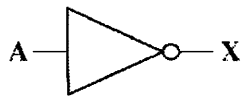
A	B	X
0	0	0
0	1	1
1	0	1
1	1	1



NOT 素子

$$X=\bar{A}$$

A	X
0	1
1	0



NAND 素子

$$X=\overline{A \cdot B}$$

A	B	X
0	0	1
0	1	1
1	0	1
1	1	0



NOR 素子

$$X=\overline{A+B}$$

A	B	X
0	0	1
0	1	0
1	0	0
1	1	0



Exclusive OR 素子

$$X=\bar{A} \cdot B + A \cdot \bar{B}$$

A	B	X
0	0	0
0	1	1
1	0	1
1	1	0



図 1 基本素子

D フリップフロップ素子は、一桁のデータを保存し、その値を Q に出力する基本素子である。クロック信号 CK が「0」から「1」に変化するときにだけ D の値が入力される。それ以外の場合、D の値は入力されることはない。回路図において、D フリップフロップ素子は図 2 のように表わされる。

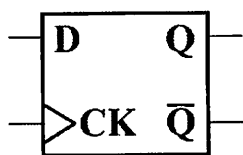


図 2 D フリップフロップ素子

また、NOT 素子の動作をより安定化させた素子に、シュミットトリガ NOT 素子がある。動作は NOT 素子と同様であり、回路図において、図 3 のように表わされる。

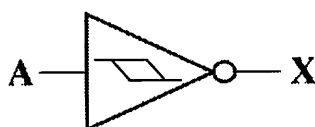


図 3 シュミットトリガ NOT 素子

私たちの研究目的は「CPU の仕組みを理解して、オリジナル CPU をつくる」ことである。そのためには、まず、CPU の各動作を担う ALU、レジスタ、プログラムカウンタ、メモリ、コントローラの仕組みを理解し、次にオリジナル CPU の回路図を設計し、最後に汎用 IC を用いてオリジナル CPU を実際に製作するという流れで研究を進めた。

なお、ALU における計算は二進法を用いる。また、負の数の扱いは 2 の補数表現を用いる。2 の補数表現とは、ある二進数の数 A に対して「-A」は「A の各位の 0 と 1 を入れ替えた数に 1 を加えた数」と同値というものである。4 桁の計算機を例にして、2 の補数について、証明する。4 桁の計算機では、4 桁の整数と、その数の各桁の 0 と 1 を入れ替えた数の和は 1111 である。(①②③④では、0100 を 4 桁の整数の例とする。)

$$0100 + 1011 = 1111 \quad \cdots \textcircled{1}$$

これに 1 を加えると、10000 となるが、4 桁の計算機では、桁数不足で 0000 となる。

$$0100 + 1011 + 1 = 0000 \quad \cdots \textcircled{2}$$

加算の順番を変えても、結果は変わらないので、4 桁の計算機では次式が成り立つ。

$$0100 + (1011 + 1) = 0000 \quad \cdots \textcircled{3}$$

ところで、4 桁の整数から、それと同じ大きさの 4 桁の整数を引くと 0 になる。

$$0100 - 0100 = 0000 \quad \cdots \textcircled{4}$$

③と④を比較すると -0100 と $+(1011 + 1)$ は同じであることがわかる。

このように、4 桁の計算機では、4 桁の整数を引く操作は、各桁の 0 と 1 を入れ替えた数に 1 を加えた数を足す操作と同じである。同様に考察することで、ある二進数の数 A に対して「-A」は「A の各位の 0 と 1 を入れ替えた数に 1 を加えた数」と同値である、という関係は成立する。

2.実験手順

ALU 部門, レジスタ部門, プログラムカウンタ部門, メモリ部門, コントローラ部門に分け, 部門毎にこの章に掲載されている回路を設計, 製作した。

使用した IC (Integrated Circuit) は, すべて, 株式会社東芝セミコンダクター社製である。IC74HC04 (NOT 素子), IC74HC08 (AND 素子), IC74HC14 (シュミットトリガ NOT 素子), IC74HC32 (OR 素子), IC74HC86 (Exclusive OR 素子), IC74HC74 (D フリップフロップ素子) の IC を使用し, サンハヤト株式会社製 IC トレーナー上に回路を製作した。また, サンハヤト株式会社製 DIP スイッチ (Dual In line Package スイッチ) を用いた。

2.1 設計・製作した CPU

まず, 二桁整数 CPU の回路図を設計し, その回路図に基づいた回路を IC トレーナー上に製作した。扱える数字は, 整数二桁で, メモリに記憶できる命令は, 2 命令である。実装機能は, レジスタと Im の加算機能, ジャンプ機能とする。動作表は, 表 1 に示す。回路図は図 4, 二桁整数 CPU の写真は写真 1 として掲載した。W0 は書き込み信号, P0 は番地指定信号, CLR は値を強制的に「0」にする信号, Q は出力を示している。

Op,Im	命令
00	0 番地にジャンプ
01	1 番地にジャンプ
10	レジスタの値に 0 を加算
11	レジスタの値に 1 を加算

表 1 二桁整数 CPU の動作表

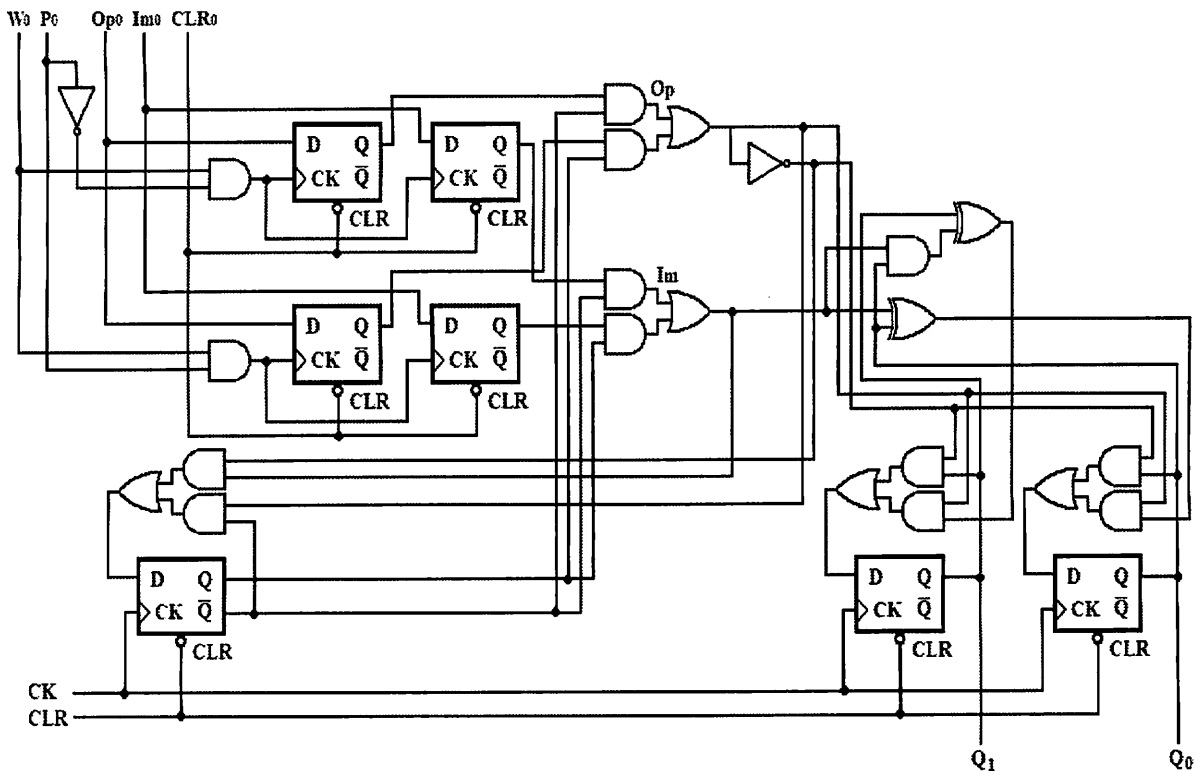


図 4 二桁整数 CPU の回路図

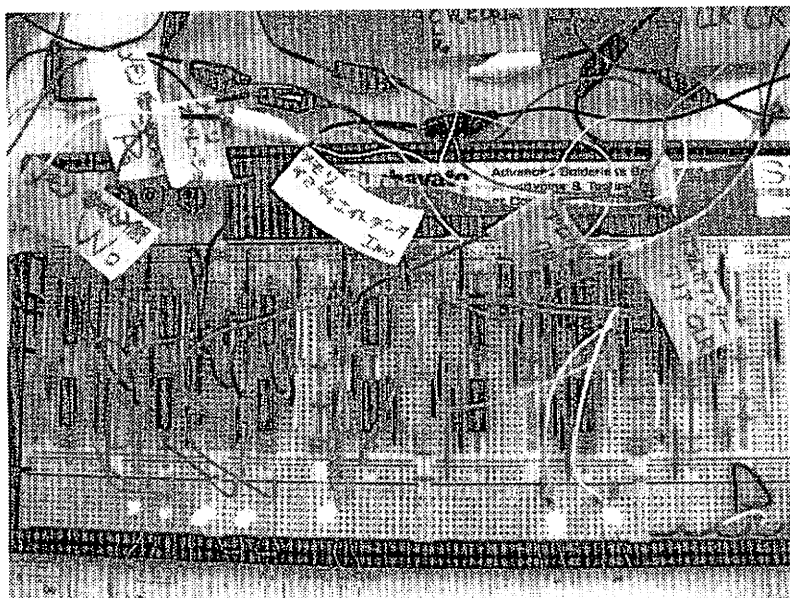


写真 1 二桁整数 CPU の写真

そののち、演算機能、記憶機能を発展させた、八桁整数 CPU を設計、製作した。扱える数字は、整数四桁で、メモリに記憶できる命令は、16 命令である。実装機能は、レジスタ間の加算・減算・乗算機能、レジスタと Im の加算・減算・乗算機能、レジスタのリセット機能、ジャンプ機能とする。動作表は、表 2 に示す。回路図は、大規模なので、図 5~8 に分割して掲載した。回路図の ALU、レジスタ、プログラムカウンタの部分の回路図は、それぞれ、図 15、図 18、図 21、図 23 に掲載されている。メモリの部分には、DIP スイッチを用いている。DIP スイッチでの代用については、『CPU の創り方』 p.121~134 参照。また、八桁整数 CPU の写真は写真 2 として掲載した。

Op	命令	Op	命令
0000	ジャンプ命令	1000	レジスタ B からレジスタ A の値を減算
0001	レジスタ A に Im の値を加算	1001	レジスタ A に Im の値を乗算
0010	レジスタ A にレジスタ B の値を加算	1010	レジスタ A にレジスタ B の値を乗算
0011	レジスタ B に Im の値を加算	1011	レジスタ B に Im の値を乗算
0100	レジスタ B にレジスタ A の値を加算	1100	レジスタ B にレジスタ A の値を乗算
0101	レジスタ A から Im の値を減算	1101	レジスタ A の値をリセット
0110	レジスタ A からレジスタ B の値を減算	1110	レジスタ B の値をリセット
0111	レジスタ B から Im の値を減算	1111	レジスタ A とレジスタ B の値をリセット

表 2 八桁整数 CPU の動作表

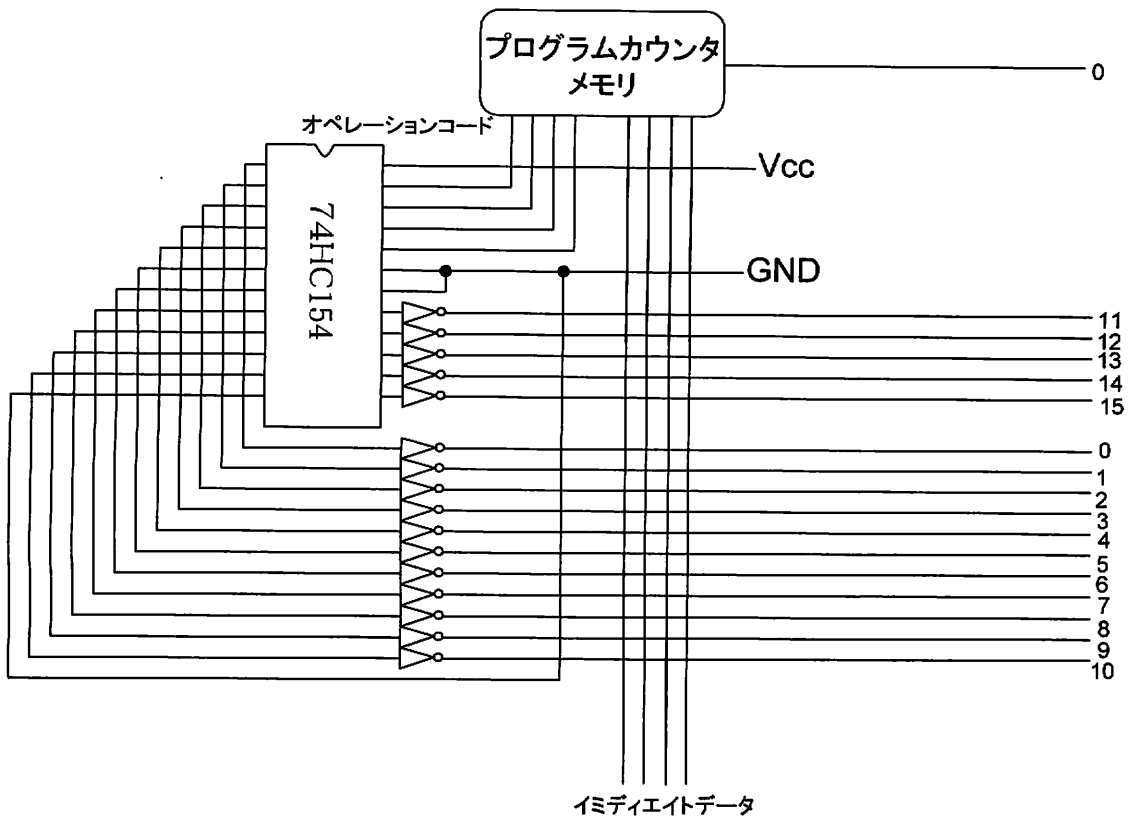


図 5 オペレーションコードの変換を行う部分

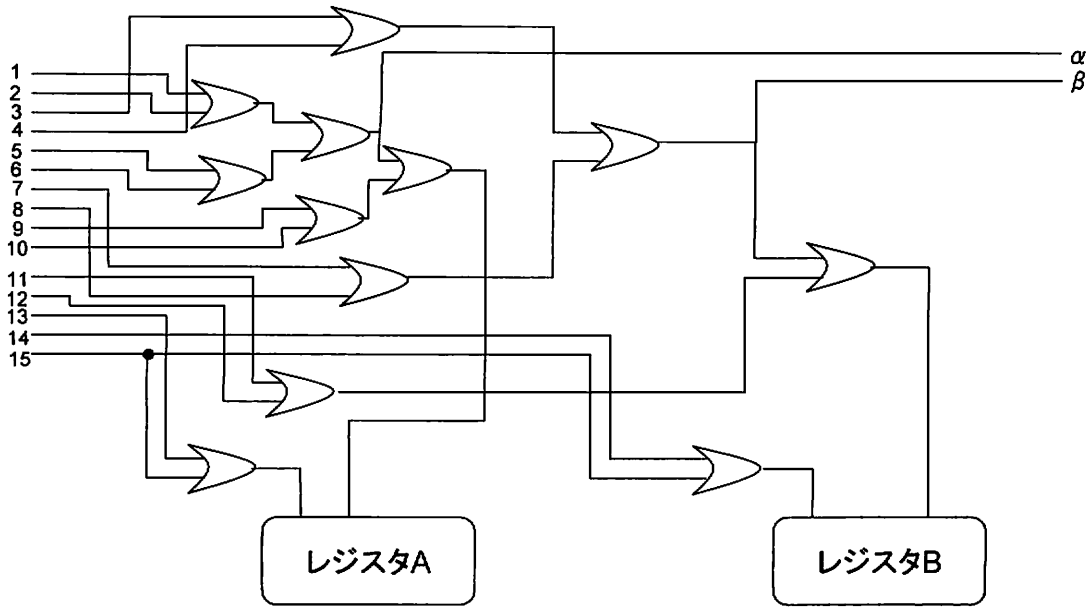


図 6 レジスタに直接データを送る命令を行う部分

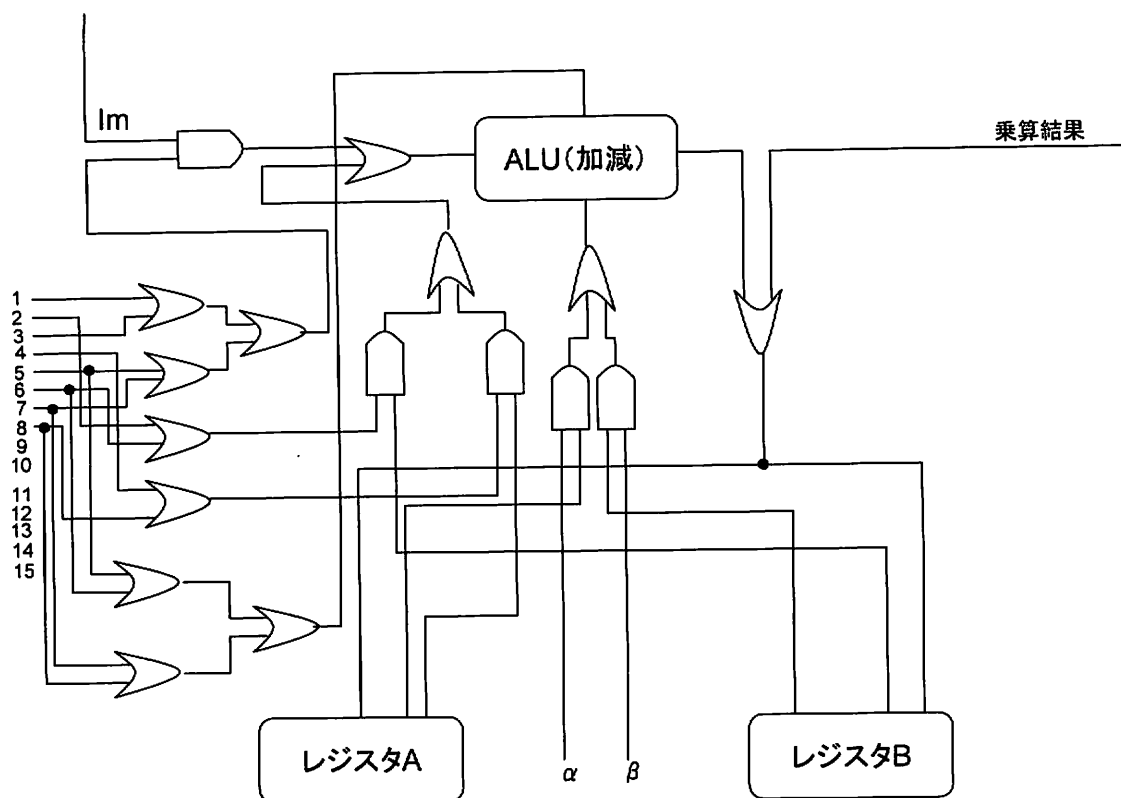


図 7 加算と減算用の ALU を利用する命令を行う部分

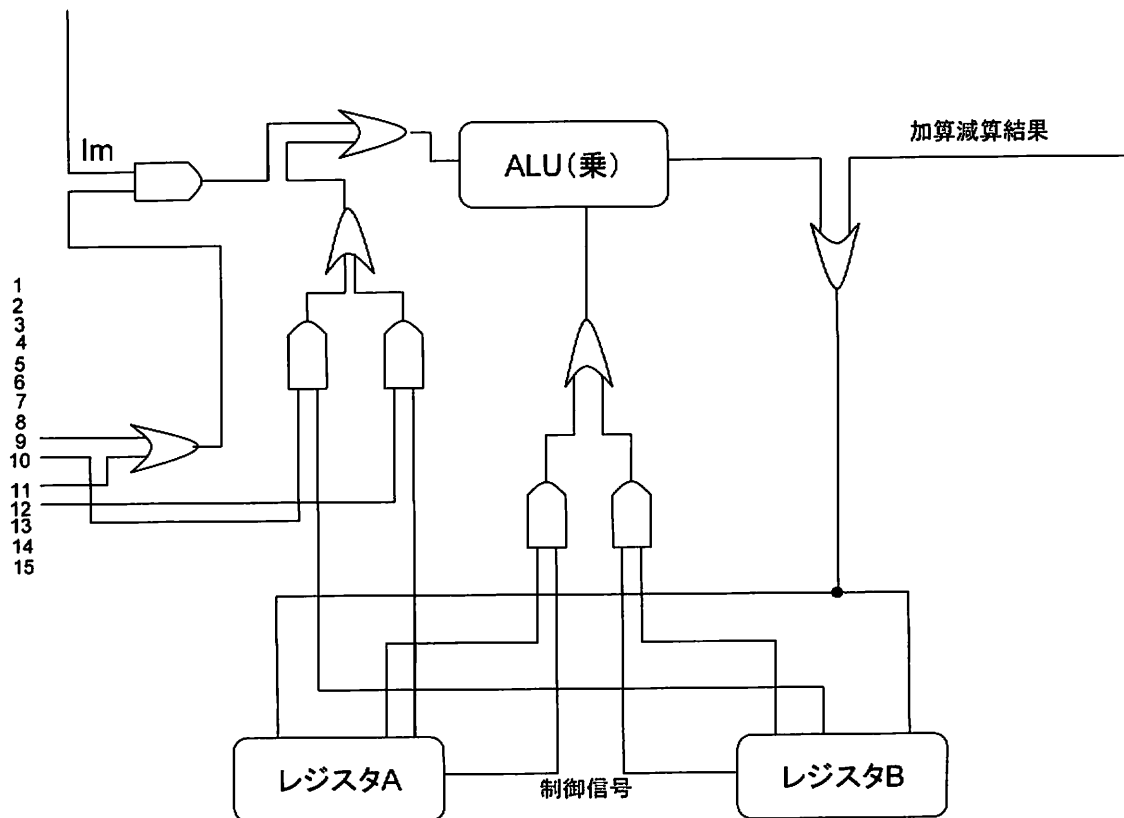


図 8 乗算用の ALU を利用する命令を行う部分

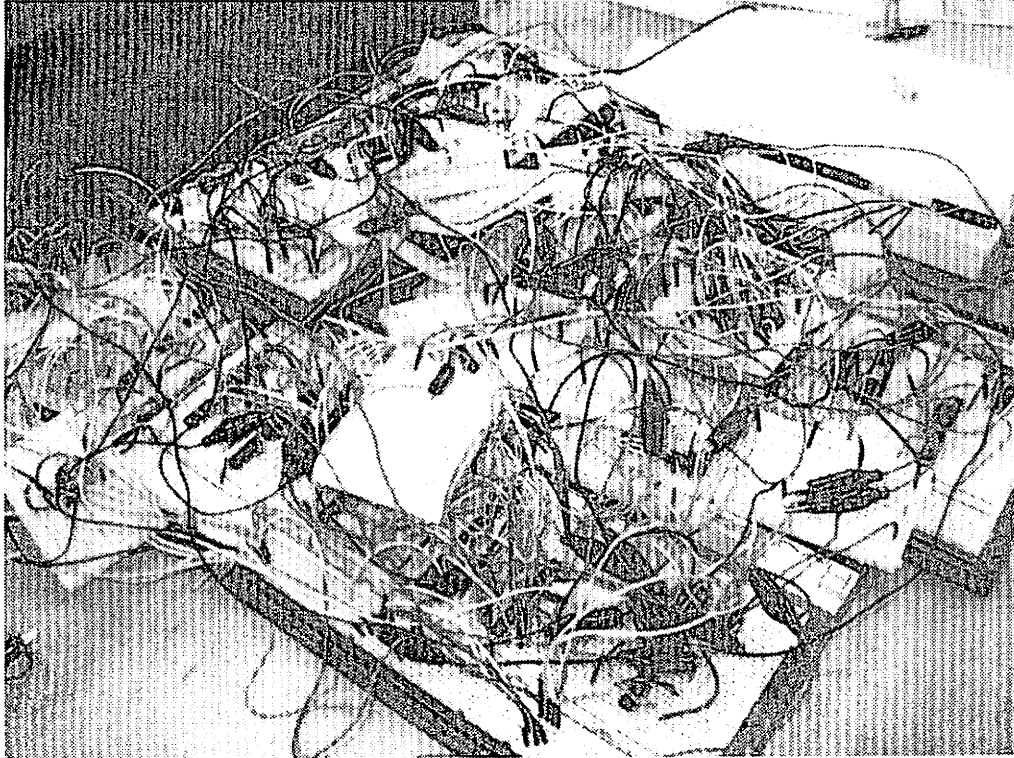


写真 2 八桁整数 CPU の写真

2.2 ALU 部門

ALU 部門では、八桁整数 CPU で実装される演算回路、すなわち、四桁加算回路、四桁減算回路、四桁乗算回路を設計、製作した。

2.2-1 半加算器

まず、足し算の基礎となる半加算器を製作した。一般的に半加算器とは表 3 のような動作を行う回路のことで、2つの入力の加算を行う加算器のことである。私たちが製作した半加算器の回路図が図 9 である。以下、A、B は入力された値を、C はキャリー（繰り上がり）を、S は計算結果を示す。

A	B	C	S
0	0	0	0
1	0	0	1
0	1	0	1
1	1	1	0

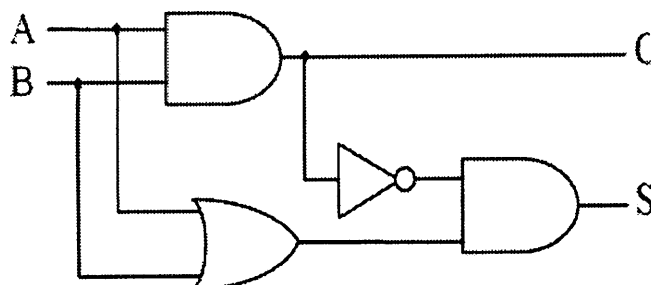


表 3 半加算器の動作表

図 9 半加算器の回路図

また Exclusive OR 素子を使用し、より小規模な半加算器を製作した。その回路図が図 10 である。

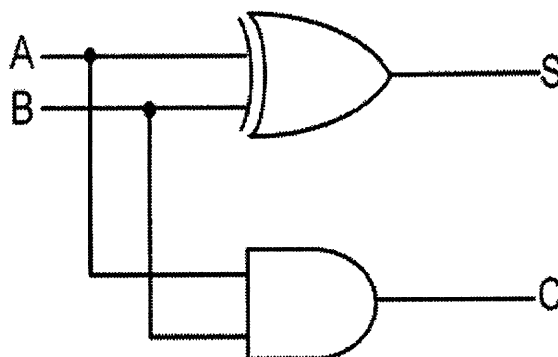


図 10 小規模半加算器の回路図

以降は半加算器を図 11 のように表すこととする。

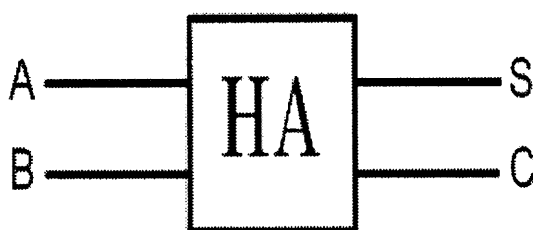


図 11 回路図での半加算器の表し方

2.2-2 全加算器

次に、繰り上がりを考えた足し算を行う回路である全加算器を製作した。一般的に全加算器とは表 4 のような動作を行う回路である。そこで私たちは半加算器を組み合わせて、表 4 のような動作を行う回路を製作した。その回路図が図 12 である。ここで、 C_0 は前の桁からのキャリーを。 C_1 は次の桁へのキャリーを示す

C_0	A	B	C_1	S
0	0	0	0	0
0	1	0	0	1
0	0	1	0	1
0	1	1	1	0
1	0	0	0	1
1	1	0	1	0
1	0	1	1	0
1	1	1	1	1

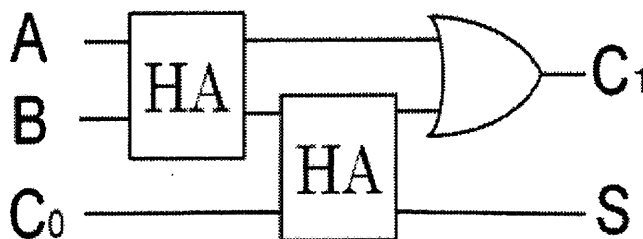


図 12 全加算器の回路図

表 4 全加算器の動作表

以降は全加算器を図 13 のように表すことにする。



図 13 回路図での全加算器の表し方

2.2-3 四桁加算器

ここで、八桁整数 CPU に使用する ALU として、四桁の加算が可能な四桁加算器を設計、製作した。全加算器を四つ組み合わせて設計した。その回路図は図 14 である。

A を足される数、B を足す数、S を計算結果として、A0 を A の一桁目、A1 を A の二桁目、A2 を A の三桁目、A3 を A の四桁目とし、B と S においても同様に表すとす。

$A+B=S$ において、例えば $11+14=25$ を考えてみる。 $11+14=25$ を二進法で表すと $1011+1110=11001$ となる。よって A では A0, A1, A3 に入力され、B では B1, B2, B3 に入力される。A+B を計算すると S0, S3, S4 に出力される。

図 14 の回路はこのような動作を $0000+0000$ から $1111+1111$ においても行うことができる回路である。なお、GND とは、「0」を示している。

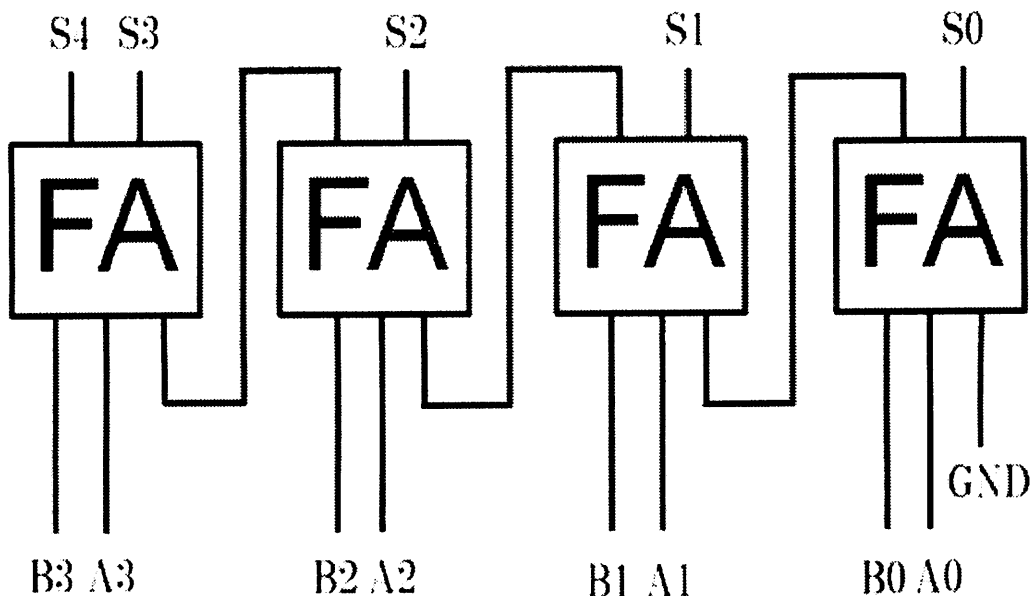


図 14 四桁加算器の回路図

2.2-4 減算器

目標は四桁の減算器の製作である。二進法の減算については、1.緒言で述べたように 2 の補数表現を用いる。それには引く数（以後 B を引く数とする。）の「各桁の 0 や 1 を入れ替えた」ものに「1 を加える」という二つの動作が必要である。「0 と 1 を入れ替える」とは、「0 の入力を 1 に、1 の入力を 0 に」ということであるので NOT 素子が有効だが、今回は制御信号が「0」のときに加算、「1」のときに減算を行う回路を製作したいので、Exclusive OR 素子を使用する。（図 15 のようにつなぐと、制御信号が「0」のときは、A に、B の各桁の元の値が加算される。制御信号が「1」のときは、A に、「B の各桁の 0 と 1 を入れ替えた値」と、制御信号「1」が加算される。）また、計算結果が負の数の時にも対応できるように、B の値が A の値より大きいときの減算の計算結果は、緒言で述べた 2 の補数表現として表現されるように設計している。

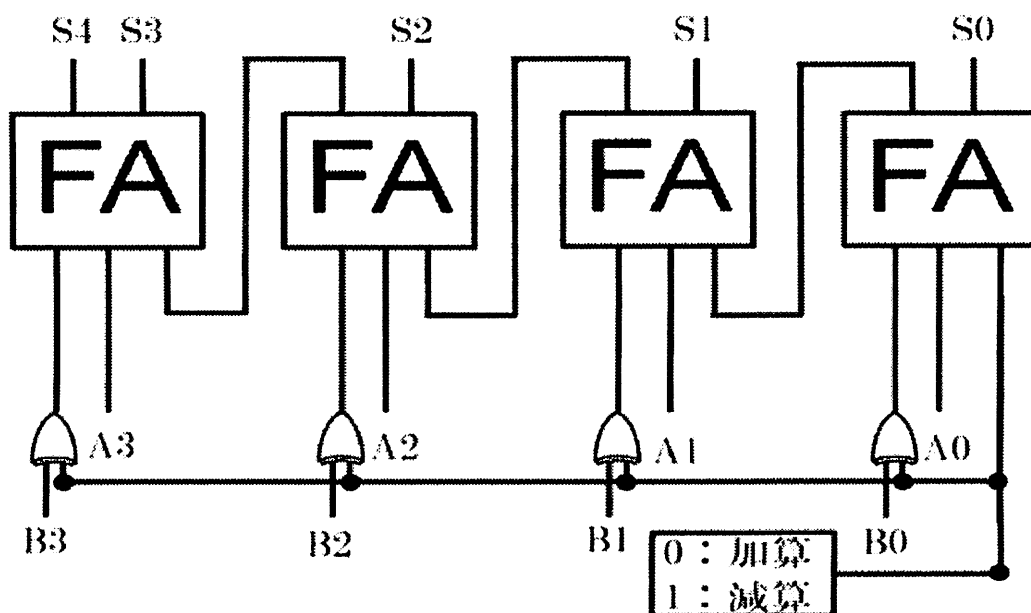


図 15 四桁減算器の回路図

2.2-5 乗算器

乗算を作成するには乗算の筆算を利用する。十進法での、例えば $13 \times 12 = 156$ という乗算は図 16 のように行すが、これを二進法に直すと図 17 のようになる。乗算の筆算においては、「A と B の各桁の値をそれぞれ掛ける」、「位ごとに足す」という動作が行われている。「掛ける」という動作は AND 素子を用いればよい。また、「各位ごとに足す」については、本来は位ごと縦に足すのだが、先に作った四桁加算器を用いて、次頁の図 17 にあるようにまず①と②を足して、次にその結果と③を次に足し、最後にその結果と④を足すという三段階に分けた加算動作で代用した。これらを回路図に表すと図 18 のようになる。A は掛けられる数、B は掛ける数、S は計算結果を示す。

$$\begin{array}{r}
 13 \\
 \times 12 \\
 \hline
 26 \\
 13 \\
 \hline
 156
 \end{array}$$

図 16 $13 \times 12 = 156$

$$\begin{array}{r}
 1101 \\
 \times 1100 \\
 \hline
 0000 \leftarrow \textcircled{1} \\
 0000 \leftarrow \textcircled{2} \\
 1101 \leftarrow \textcircled{3} \\
 1101 \leftarrow \textcircled{4} \\
 \hline
 10011100
 \end{array}$$

図 17 $1101 \times 1100 = 10011100$

また、図 18 での四桁加算器は、図 14 の四桁加算器と異なり、必要最低限な入力数で済ませるため、一部の全加算器を半加算器に変更している。(全加算器を用いる際は、不必要な入力部分を、GND につなげばよい。) また、計算途中の段階で値が決定する S0, S1, S2 は、それぞれの値が決定した段階で、次の加算器に値を送るのを省略して、そのまま計算結果に出力している。

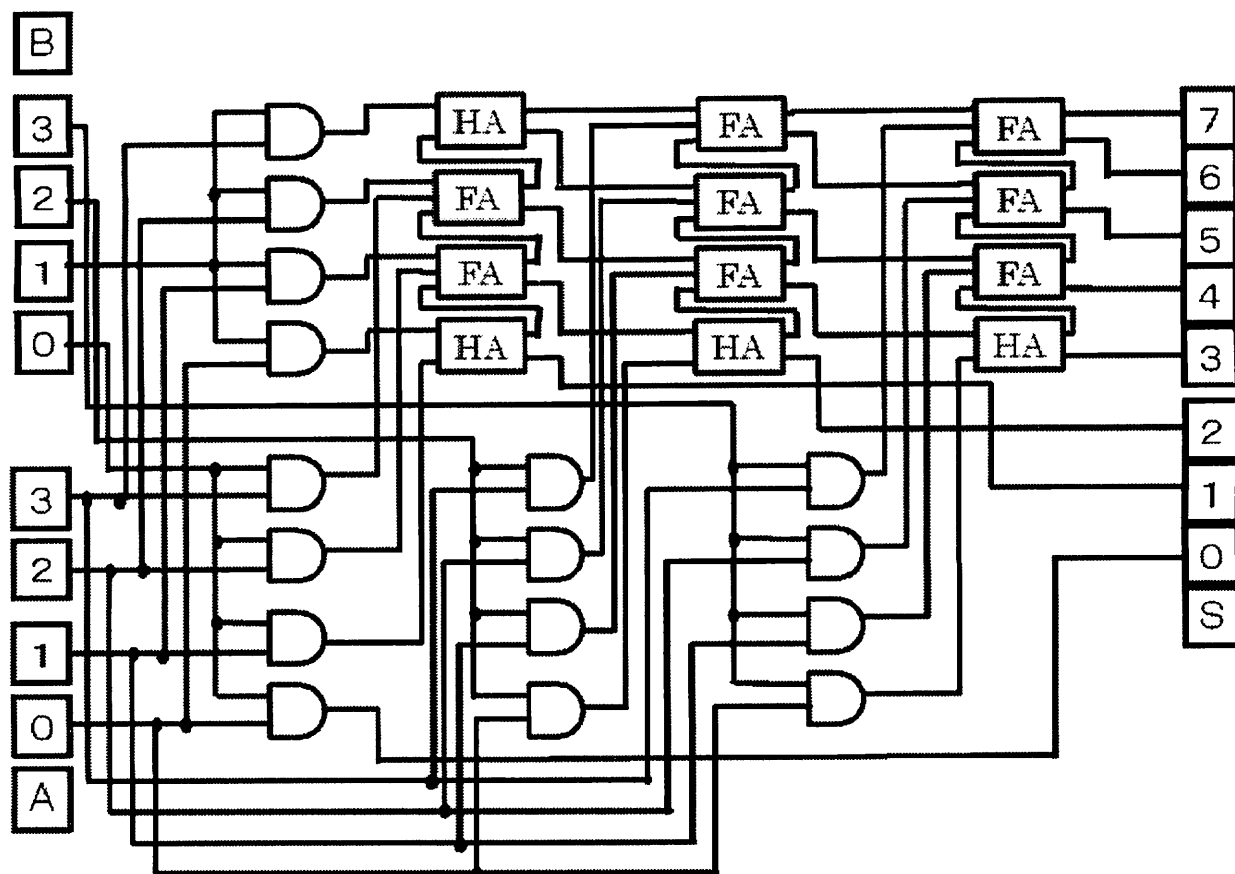


図 18 四桁乗算器

2.3 レジスタ部門

演算結果を格納する回路，すなわち「制御信号の値によって，保存されている値をそのまま保存し続ける，または保存されている値を ALU で演算した結果を改めて保存する回路」を設計し，製作する。レジスタの動作表は表 5 に示す。

制御信号	計算後の値
0	元の値を保持
1	演算結果

表 5 レジスタの動作表

まず、二桁整数 CPU に使用するレジスタとして、二桁の値を保存が可能な二桁レジスタを設計、製作した。回路図は図 19 に示す。なお、Op は制御信号、CK はクロック信号、CLR はレジスタの値を 0 にする信号が入力される制御線を示している。

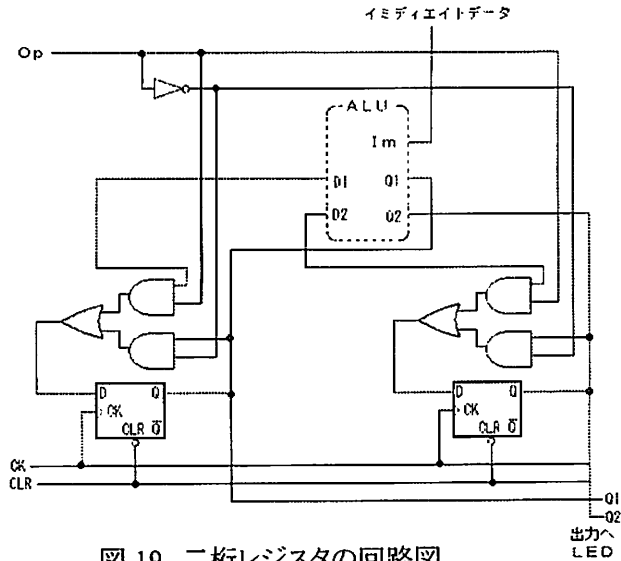


図 19 二桁レジスタの回路図

しかし、図 19 の回路では、二桁レジスタは正常に動作しなかった。Op の入力不安定であるために、NOT 素子が異常動作を起こし、二桁レジスタは正常に動作しなかった、と私たちは考え、NOT 素子をシュミットトリガ NOT 素子に変更した二桁レジスタ改を製作した。回路図は図 20 に示す。

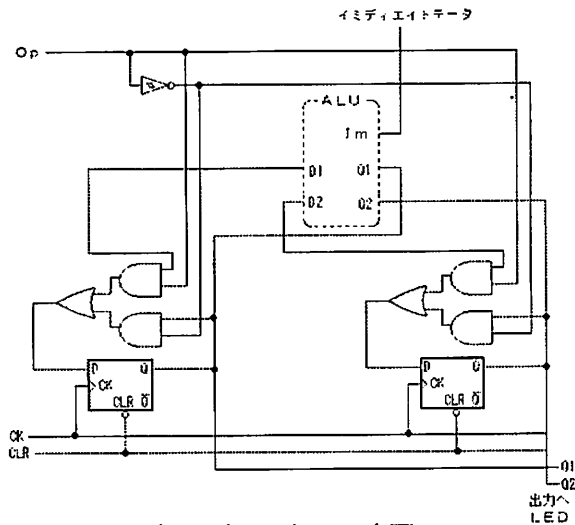


図 20 二桁レジスタ改の回路図

次に、八桁整数 CPU に使用するレジスタとして、四桁の値の保存が可能な四桁レジスタを設計、製作した。回路図は図 21 に示す。

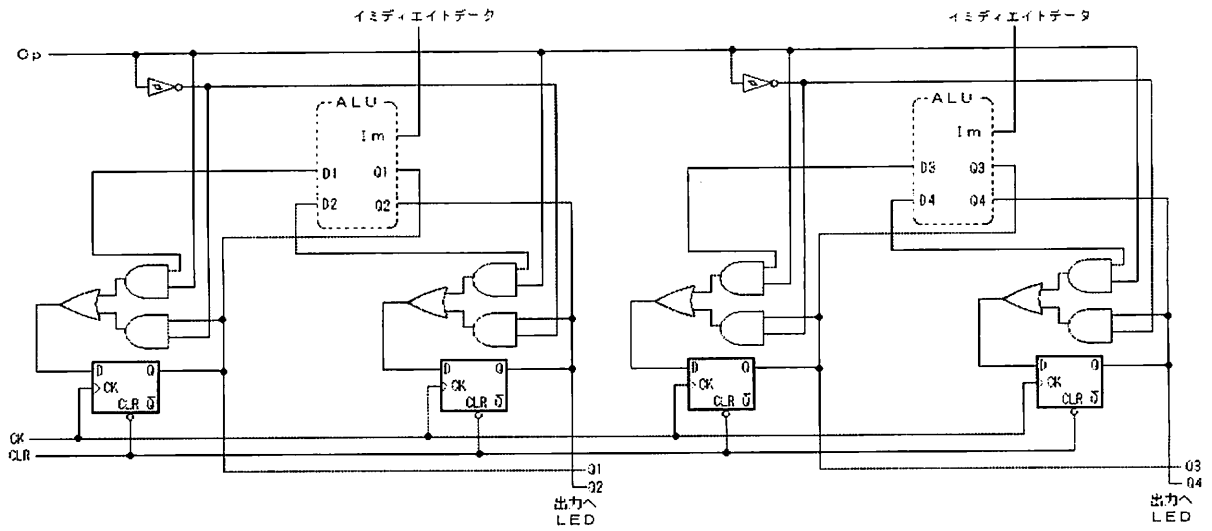


図 21 四桁レジスタの回路図

2.4 プログラムカウンタ部門

カウントアップ機能に加えて、ジャンプ命令機能を実装するプログラムカウンタを設計し、製作する。動作表は表 6 に示す。LD は、「0」を入力されたときに、Im の指定する番地にジャンプする信号を示している。

CLR	LD	動作
0	X	カウンタを 0 にリセット
1	0	Im の指定する番地にジャンプ
1	1	カウントアップ

表 6 プログラムカウンタの動作表

まず、二桁整数 CPU に使用するプログラムカウンタとして、一桁のカウントアップが可能な一桁プログラムカウンタを設計、製作した。回路図は図 22 に示す。

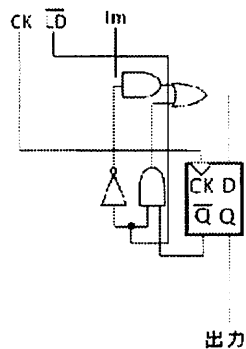


図 22 一桁プログラムカウンタの回路図

次に、八桁整数 CPU に使用するプログラムカウンタとして、四桁のカウントアップが可能な四桁プログラムカウンタを設計、製作した。回路図は図 23 に示す。

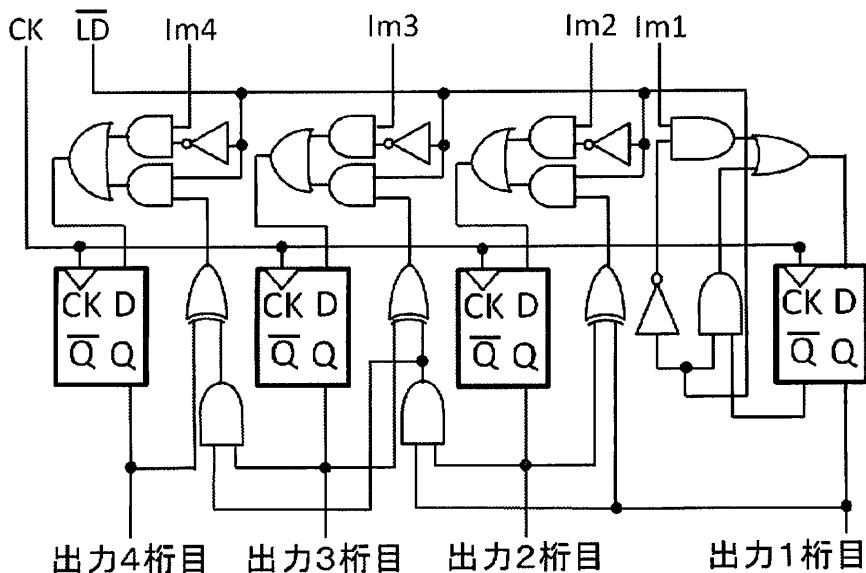


図 23 四桁プログラムカウンタの回路図

2.5 メモリ部門

入力された命令を記憶するメモリを設計し、製作する。

二桁整数 CPU に使用するメモリとして、2桁の命令を 0 番地と 1 番地の 2 つの番地に格納可能な二桁二連メモリを設計、製作した。回路図は図 24 に示す。

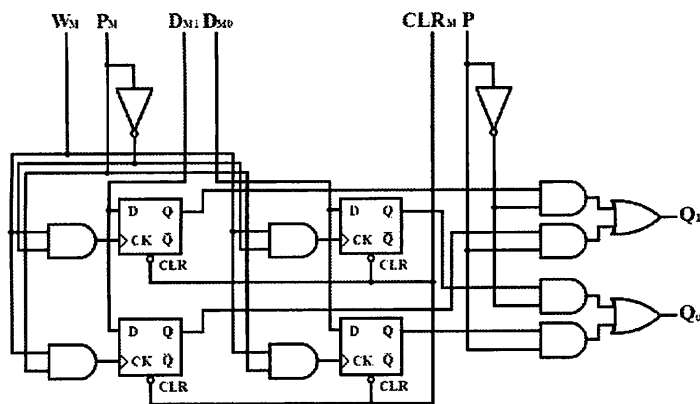


図 24 二桁二連メモリの回路図

なお、八桁整数 CPU では、いたずらに回路が煩雑になるのを避けるため、メモリを DIP スイッチで代用している。DIP スイッチでの代用については、『CPU の創り方』 p.121~134 参照。

2.6 コントローラ部門

コントローラ部門では、今までに掲載した回路を組み合わせ、二桁整数 CPU、八桁整数 CPU の設計、製作を行った。

2.6-1 二桁整数 CPU

二桁整数 CPU では、全加算器、二桁レジスタ改、一桁プログラムカウンタ、二桁メモリを直接つなぐだけでよかったため、コントローラは製作する必要がなかった。動作表は表 1、回路図は図 4、写真は写真 1 として掲載した。動作確認は、全命令を総当り的に行って確認した。

2.6-2 八桁整数 CPU

八桁整数 CPU では表 2 のような動作をする回路図を考えた。このとき ALU、レジスタ、プログラムカウンタ、メモリは他のグループによってすでに作られているもの、すなわち四桁加減算器、四桁乗算器、四桁レジスタ、四桁プログラムカウンタ、八桁十六連メモリの代用の DIP スイッチを使用した。まず、ALU とレジスタを繋ぎ、次に、プログラムカウンタとメモリを繋いだ。その後、各々の回路で、動作確認 (2.6-3 項参照) を行い、正常な動作を行うことを確認した後、二回路を繋げた。回路図は、図 5~8、写真は写真 2 として掲載した。

2.6-3 動作確認

まず、ALU とレジスタを接続し、①②の動作確認を行った。次に、プログラムカウンタとメモリを接続し、③④の動作確認を行った。最後に、「ALU とレジスタ」と「プログラムカウンタとメモリ」を接続し、コントローラ部分を製作した。そして、⑤の動作確認を行った。

①制御信号が「0」のとき

クロック信号のタイミングで、レジスタの値が保持されていることを動作確認。

②制御信号が「1」のとき

クロック信号のタイミングで、レジスタから ALU へデータを転送し、その演算結果が、レジスタに格納されることを動作確認。

③制御信号が「0」のとき

クロック信号のタイミングで、Im で指定された番地に、プログラムカウンタの値がジャンプし、メモリからジャンプ後の番地に格納されている「数」が出力されていることを動作確認。

④制御信号が「1」のとき

クロック信号のタイミングで、プログラムカウンタがカウントアップし、メモリからカウントアップ後の番地に格納されている「数」が出力されていることを動作確認。

⑤クロック信号のタイミングで、プログラムが実行されることを動作確認。

3.実験結果

3.1 ALU 部門

回路図をもとに製作した ALU 回路は、半加算器、全加算器、四桁加減算器、四桁乗算器すべてが、動作表通り、もしくは、動作予想通りに動作した。

3.2 レジスタ部門

回路図をもとに製作したレジスタ回路は、当初設計した二桁レジスタの動作が不安定であったものの、NOT 素子をシュミットトリガ NOT 素子に変更した二桁レジスタ改では、不安定な動作が改善され、動作表通りに動作するようになった。また、四桁レジスタも動作表通りに動作した。

3.3 プログラムカウンタ部門

回路図をもとに製作したプログラムカウンタ回路は、一桁プログラムカウンタ、四桁プログラムカウンタ共に、動作表通りに動作した。

3.4 メモリ部門

回路図をもとに製作したメモリ回路は、指定された番地にプログラムを書き込んだり、読み出したりすることができた。

3.5 コントローラ部門

製作した二桁整数 CPU は、動作表通りに動作した。

しかし、製作した八桁整数 CPU は、動作表通りには動作しなかった。以下に、その詳細を記載する。

図 5-8 の回路図を基に製作した結果、ALU とレジスタを組み合わせた段階、プログラムカウンタとメモリを組み合わせた段階では正常に動作することは確認した。だが、それらを組み合わせて八桁整数 CPU を製作すると、表 2 の中で、Op=0000「ジャンプ命令」だけは正常に動作したのに対し、その他の、レジスタに関与する命令は、命令に反してレジスタの値が変化せず、正常には動作しなかった。

4.考察

4.1 ALU 部門

3.1 節に示したように、製作した ALU 回路は動作表及び動作予想通りに動作した。ALU 部門においては、仮説「私たちの設計した CPU は、実際に製作しても、正しく動く」は成り立っている。

4.2 レジスタ部門

3.2 節に示したように、二桁レジスタは正常な動作を行わなかったものの、その改良形の二桁レジスタ改は動作表通りに動作した。また、四桁レジスタも動作表通りに動作した。レジスタ部門においては、仮説「私たちの設計した CPU は、実際に製作しても、正しく動く」は成り立っているといってもよい。

4.3 プログラムカウンタ部門

3.3 節に示したように、製作したプログラムカウンタ回路は動作表通りに動作した。プログラムカウンタ部門においては、仮説「私たちの設計した CPU は、実際に製作しても、正しく動く」は成り立っている。

4.4 メモリ部門

3.4 節に示したように、製作したメモリ回路は動作表通りに動作した。メモリ部門においては、仮説「私たちの設計した CPU は、実際に製作しても、正しく動く」は成り立っている。

4.5 コントローラ部門

製作した二桁整数 CPU は、動作確認をしたところ正常に動作した。これに対して、八桁整数 CPU は、正常に動作しなかった。図 22~24 を基にして製作したときに ALU とレジスタを組み合わせた段階、及びプログラムカウンタとメモリを組み合わせた段階では正常に動作した。にもかかわらず、ALU、レジスタ、プログラムカウンタ、メモリを組み合わせると CPU が正常に動作しなくなったが、その原因は、回路の規模が非常に巨大になったことによる回路の接触不良等が考えられる。その解決方法としては、内部動作確認用の LED (Light Emitting Diode) を用いて接触不良個所を検知することや、ハードウェア記述言語によって、パソコン上で回路設計し、これをパソコンから FPGA (Field-Programmable Gate Array) という集積回路にダウンロードすることにより、FPGA 上に電子回路を作成する技術を用いることなどがあげられる。

5. 結論

自分たちで設計した回路図を基にして製作した回路はほとんどが正常に動作した。ALU 部門は、半加算器、全加算器、四桁加減算器、四桁乗算器の回路図を設計し、それを基にして回路を製作することができ、動作確認をしたところ、正常に動作した。レジスタ部門は、動作が不安定だった二桁レジスタを改造した二桁レジスタ改、及び四桁レジスタの回路図を設計し、それを基にして回路を製作することができ、動作確認をしたところ、正常に動作した。プログラムカウンタ部門は、一桁プログラムカウンタと四桁プログラムカウンタの回路図を設計し、それを基にして回路を製作することができ、動作確認をしたところ、正常に動作した。メモリ部門は、指定した番地への書き込みとそこからの読み取りができるメモリの回路図を設計し、それを基にして回路を製作することができ、動作確認をしたところ、正常に動作した。コントローラ部門は、全加算器、二桁レジスタ改、一桁プログラムカウンタ、二桁メモリを直接つないだ二桁整数 CPU の回路図を設計し、それを基にして回路を製作することができ、動作確認をしたところ、正常に動作した。また、八桁整数 CPU は、ALU とレジスタを組み合わせた段階、及びプログラムカウンタとメモリを組み合わせた段階では正常に動作した。

これまでの製作を終えて、今までブラックボックスであった CPU の仕組みを電子回路レベルまで掘り下げて理解することができて、オリジナル CPU を製作することができるようになった。

今後の目標は、まず八桁整数 CPU を完成させることである。八桁整数 CPU の動作不良の原因を、LED を用いることで調べ、正常に動作するように修正する。その後は、全体の桁数を増やし、回路規模を縮小し、八桁整数 CPU を改良することを目標とする。

6.参考文献

渡波郁 CPU の創りかた 毎日コミュニケーションズ

7.謝辞

実験を手伝ってくださった文田憲行先生，今西さやか先生，蜂須賀豊先生，竹林秀浩先生，またサイエンス探究全般で協力してくださった福野勝久先生をはじめ大手前高校教員の皆様ありがとうございました。

平成 22 年度 大阪府立大手前高等学校 サイエンス探究 研究報告書

平成 23 年 (2011 年) 3 月 1 日 初版第 1 刷

発 行 大阪府立大手前高等学校
大阪府大阪市中央区大手前 2-1-11

電 話 06(6941)0051

F A X 06(6941)3163

<http://www.osaka-c.ed.jp/otemae>

本書で無断で複写・複製することを禁ずる