

# 簡易な化合物濃度測定法の開発と高校探究学習に向けた有用性検証

The simplified measurement scheme of chemical concentrations  
adapted to high school exploratory studies

市川 俊輔<sup>\*1</sup>・長谷川 駿介<sup>\*2</sup>・荻原 彰<sup>\*3</sup>・米川 美有<sup>\*1</sup>・杉澤 学<sup>\*1,\*4</sup>

<sup>\*1</sup> 三重大学教育学部・<sup>\*2</sup> 豊川高等学校・<sup>\*3</sup> 京都橘大学発達教育学部・<sup>\*4</sup> 三重大学教職大学院

高等学校学習指導要領改訂により探究科目が設置され、すべての高等学校において、探究型学習が行われるものと考えられる。探究型学習を先駆けて行っているスーパーサイエンスハイスクール指定校では、環境水、大気、食品に含まれている化学物濃度を測定する化学実験が多く行われている。多くの高等学校では、分光光度計など高価な化学物濃度測定装置を保有していないため、化学分野の探究型学習を広く実施することが難しい状況にある。本研究では、多くの高等学校が所有しているスキャナー・パソコン、及び無料の画像解析を用いた、探究型学習に利用することのできる化合物濃度測定法を提案する。本研究手法によって、水溶液中のデンプン濃度、亜硝酸濃度、COD値など、高校探究型学習で頻繁に行われる化合物濃度測定を、広い測定範囲を持って、安価に実施できることを明らかにした。

キーワード：探究型学習、化学物濃度測定、呈色反応

## 1. はじめに

高等学校学習指導要領の改訂によって、これまで総合的な学習の時間として実施されてきた科目が、総合的な探究の時間に変更される。それに加えて、2022年から実施される高等学校学習指導要領においては、古典探究、地理探究、日本史探究、世界史探究、理数探究基礎、理数探究の6つの探究科目が設置される(文部科学省, 2018)。これらのことから、今後の学校教育では「探究型学習」が重視されていくものと考えられる。探究型学習とは、自ら立てた問いに対して、情報収集等のプロセスを立てながら解決へと導く能力を育んでいく学習のことである。

今回の探究型学習を重視した学習指導要領の改訂の経緯として、生産年齢人口の減少・グローバル化の進展・絶え間ない技術革新等により、社会構造や雇用環境は大きく急速に変化しており、予測が困難な時代となっていることが挙げられる。情報化やグローバル化が進展する社会において、多様な事象が複雑さを増し、変化の先行きを見通すことが一層難しくなっている。また、急激な少子高齢化が進む中で成熟社会を迎えた日本において、一人一人が持続可能な社会の担い手として、その多様性を原動力とし、質的な豊かさを伴った個人と社会の成長につながる新たな価値を生み出していくことが期待される。こ

うした変化の一つとして、進化した人工知能が様々な判断を行ったり、身近な物の働きがインターネット経由で最適化されるIoTが広がったりするなど、Society5.0とも呼ばれる新たな時代の到来が、社会や生活を大きく変えていくとの予測もなされている(文部科学省, 2018)。このような時代において学校教育には、子供たちが様々な変化に積極的に向き合い、他者と協働して課題を解決していくことや、様々な情報を見極め、知識の概念的な理解を実現し、情報を再構成するなどして新たな価値につなげていくこと、複雑な状況変化の中で目的を再構築することができるようにすることが求められている。このような背景から、探究型学習が学校教育において大きく取り上げられ、生徒のより主体的な学習活動を促すことができるようになっていくと考えられる。

一般社団法人日本経済団体連合会が2018年に行った「高等教育に関するアンケート」により、産業界が学生に身に付けていることを期待する資質、能力、知識として、1位が主体性、2位が実行力、3位が課題設定・解決能力であることが報告された(日本経済団体連合会, 2018)。これら社会が学生に求める資質・能力・知識は、まさに探究型学習で育成することのできる能力であり、今回の高等学校の学習指導要領の改訂を支持するものであると考えられる。

本研究では、今回の高等学校学習指導要領の改訂

で新設された探究科目の中でも、「理数探究基礎」「理数探究」について焦点をあてる。理数探究基礎や理数探究では、様々な事象に関わり、数学及び理科の見方・考え方を組み合わせるなどして、探究の過程を通して課題を解決するために必要な資質・能力を育成する科目である。この科目の目標として、以下の3つが挙げられている（文部科学省，2018）。

- (1) 対象とする事象について探究するために必要な知識及び技能を身に付けるようにする。
- (2) 多角的、複合的に事象を捉え、数学や理科などに関する課題を設定して探究し、課題を解決する力を養うとともに創造的な力を高める。
- (3) 様々な事象や課題に主体的に向き合い、粘り強く考え行動し、課題の解決や新たな価値の創造に向けて積極的に挑戦しようとする態度、探究の過程を振り返って評価・改善しようとする態度及び倫理的な態度を養う。

様々な事象についての探究の過程を通して、探究の意義・過程、研究倫理について理解させるとともに、観察・実験・調査等についての技能、事象を分析するための技能、探究した成果などをまとめて発表するための技能を身に付けさせることで、思考力、判断力表現力等を育成することが狙いとなっている（文部科学省，2018）。

将来の国際的な科学技術関係人材を育成するため、先進的な理数教育を実施するスーパーサイエンスハイスクール（SSH）指定校では、探究型学習を先駆けて行っている。これまでSSH指定校での探究型学習では、たとえば環境水や食品中の化合物濃度の測定

が頻繁に行われてきた。多くの高等学校では分光光度計など高価な化合物濃度測定装置を保有していないため、連携をしている大学や研究機関で分光光度計を利用するか、またはパックテスト（株式会社共立理化学研究所）などの簡易な測定キットで測定する方法をとっている。

これまではSSH指定校を中心に探究型学習が行われてきたが、今回の学習指導要領の改訂によって、すべての高等学校が同様の探究型学習を行うことになる。多くの高等学校が大学や研究所など連携機関をもっていない。大学や研究所も多くの高等学校に実験装置などを貸し出すことは不可能である。また、簡易化合物濃度測定キットでは、測定範囲や測定精度の観点で、用途が限定的なものが多い。

したがって、多くの高等学校が一般的に所有している器具・設備を用いて化合物濃度を測定できる教材を提案することが、今後の高等学校における探究型学習において有用だと考えた。これまでに、試料溶液を撮影したデジタル画像からピクセル値やRGB値を取得して、化合物濃度との関係を考察した論文が多数報告されているが（田口ら，2001、菊地ら，2002、古賀ら，2004、小池ら，2006、Kohl *et al.* 2006）、高校で汎用される簡易の化合物濃度測定キットとの比較などを通じた実用性検証は十分にされていない。本研究は、スキャナー・パソコン・フリーの画像解析ソフトを用いて化合物濃度測定を行う方法を提案し、その有用性を検証する（図1）。

## 2. 材料と方法

### 2.1. デンプン溶液のヨウ素デンプン反応による呈色

10.0 g の可溶性デンプン（関東化学株式会社）に蒸留水を加えて1000 g とし、加熱しながらマグネティックスターラーで攪拌して完全に溶解して、1.0%デンプン溶液を作成した。希釈したデンプン溶液10 ml に、ヨウ素溶液（2% KI、1% I<sub>2</sub>）30  $\mu$ l を加え、ポルテックスミキサーで攪拌し、ヨウ素デンプン反応による呈色を確認した。

### 2.2. $\alpha$ -アミラーゼによるデンプン分解反応

1 g の  $\alpha$ -アミラーゼ（富士フイルム和光純薬株式会社）に、蒸留水を加え溶解して1000 g とし、 $\alpha$ -アミラーゼ溶液とした。0.1%デンプン溶液10 ml をとった試験管を40  $^{\circ}$ C に設定した恒温水槽でプレイン

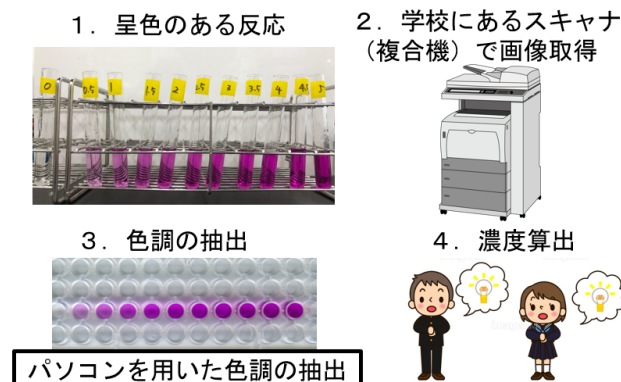


図1：本研究で提案する簡易な化合物濃度測定のスキーム

キューベーションし、 $\alpha$ -アミラーゼ溶液を加えて酵素分解反応を行なった。任意の酵素分解反応時間が経過した時点で、1M HCl を 1 ml 加え、反応を停止させた。反応停止後にすぐにヨウ素溶液を加え、ヨウ素デンプン反応による呈色を確認した。

### 2.3. 亜硝酸ナトリウム溶液のザルツマン試薬での呈色

10 mg 亜硝酸ナトリウム (富士フィルム和光純薬株式会社) に、蒸留水を加え溶解して 2000 g とすることで、5 mg/L 亜硝酸ナトリウム溶液を調製した。希釈した亜硝酸ナトリウム溶液 2 ml にザルツマン試薬 (林純薬工業株式会社) を 1 ml 加えた後、攪拌し、5 分間静置した。その後の溶液の呈色を確認した。

### 2.4. グルコース溶液の過マンガン酸カリウムでの呈色

グルコース (ナカライテスク株式会社) の水溶液 5 ml を調製し、そこに 1 M 水酸化ナトリウム水溶液を 2ml 加え、攪拌した。その後、4.0 mM 過マンガン酸カリウム溶液を 5 ml 加えて攪拌して、30 分間静置した。全量が 75 ml となるよう蒸留水で希釈して、呈色を確認した。

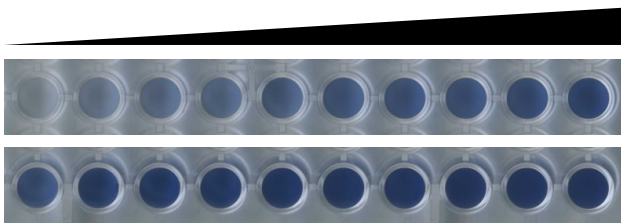


図 2 : デンプン溶液のヨウ素デンプン反応での呈色

上段に 0.01-0.1% デンプン溶液、下段に 0.1-1% デンプン溶液の呈色を示す。右にいくほどに濃度の高いデンプン溶液の結果を示している。

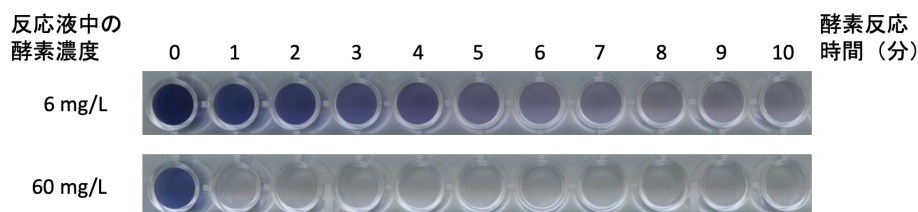


図 3 :  $\alpha$ -アミラーゼ処理したデンプン溶液のヨウ素デンプン反応による呈色

### 2.5. 各反応液の呈色評価と化合物濃度算出

各反応溶液を 96 ウェルプレートに 0.2 ml ずつ分注し、複合機のスキャナー機能を用いてデジタル画像を作成した (図 1)。無料の画像解析ソフト Image J を用いて、デジタル画像中のそれぞれの溶液の色調 (RGB 値) を抽出した (小池ら, 2006)。古賀らが報告したスペクトル変換解析を用いることで (古賀ら, 2004)、RGB 値を入力するだけで化合物濃度が表示されるエクセルフォーマットを作成した。

## 3. 結果および考察

### 3.1. $\alpha$ -アミラーゼによるデンプン分解反応とその後のデンプン濃度測定

デンプンおよびその酵素分解は、学校教育学習カリキュラムや高校探究型学習にて、頻繁に学習対象として扱われる。まず、各濃度のデンプン溶液を調製し、ヨウ素デンプン反応での呈色を評価した。デンプン濃度 0 - 0.1% において、濃度上昇に伴いヨウ素デンプン反応の呈色が強くなることを確認することができた (図 2)。スキャン画像から各溶液の RGB 値を抽出し、スペクトル変換解析を行うことによって、

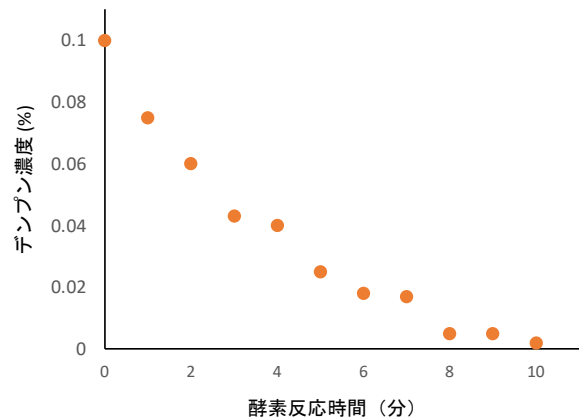


図 4 :  $\alpha$ -アミラーゼによるデンプン濃度経時変化

本研究手法でデンプン濃度を算出できることを確認できた。一方で、デンプン濃度 0.1-1%においては、ヨウ素デンプン反応での呈色変化はほとんどなかった。続いて、0.1%デンプンの  $\alpha$ -アミラーゼでの酵素分解反応を本研究手法で評価した。6 mg/L  $\alpha$ -アミラーゼで処理すると、酵素反応時間が経つにつれて、デンプン溶液のヨウ素デンプン反応での呈色は小さくなることを確認した (図 3)。60 mg/L  $\alpha$ -アミラーゼで処理した場合は、酵素反応時間 1 分間で、ヨウ素デンプン反応の呈色が消失した。本研究手法によって、デンプン酵素分解反応中の経時的なデンプン濃度を定量した (図 4)。本実験条件において、酵素反応初期に急激にデンプン濃度が低下し、約 2.5 分間で溶液中の 50%程度が分解されていることがわかった。その後、緩やかにデンプン分解が進み、酵素反応時間 10 分間ほどで反応溶液中のデンプンが検出できなくなった。

以上で示す通り、 $\alpha$ -アミラーゼによるデンプン分解反応を、本研究手法により評価できることを明らかにした。

アミラーゼによるデンプン分解反応は、既存の教科でもたびたび扱うことができる。高校理科生物基礎および生物では、生体内で化学反応を促進する因子として、アミラーゼを含む多様な酵素の触媒作用や基質特異性について扱う。高校理科化学では、化学反応速度などの観点から、化合物濃度や温度に加えて、触媒のはたらきについて学ぶ。デンプンやアミラーゼを含む酵素の話題は、家庭科の食品分野などでの話題で扱うことができる (光永, 2016, 山家ら, 2019)。以上の通り、本研究で提案するアミラーゼによるデンプン分解反応の実験系は、探究型学習はもちろん、既存教科の授業や教科横断的授業における、酵素反応の適切な理解に役立つものと考えられる。

### 3.2. 水質評価における亜硝酸濃度と COD の測定

5 mg/L までの各濃度の亜硝酸ナトリウム溶液を、ザルツマン試薬と混合し、その呈色と亜硝酸濃度との関係性を評価した。亜硝酸濃度が大きくなるほど、直線的に呈色が強くなることを確認できた (図 5)。同

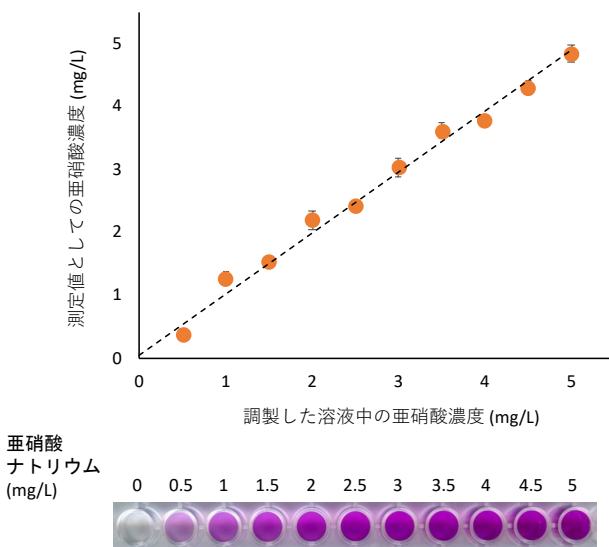


図 5 : 本研究手法での 5 mg/L 亜硝酸ナトリウム濃度測定

上段に、本研究手法で亜硝酸ナトリウム濃度を測定した結果を示す。エラーバーは標準誤差を表している。下段には、各濃度の亜硝酸ナトリウム溶液のザルツマン試薬での呈色を示している。

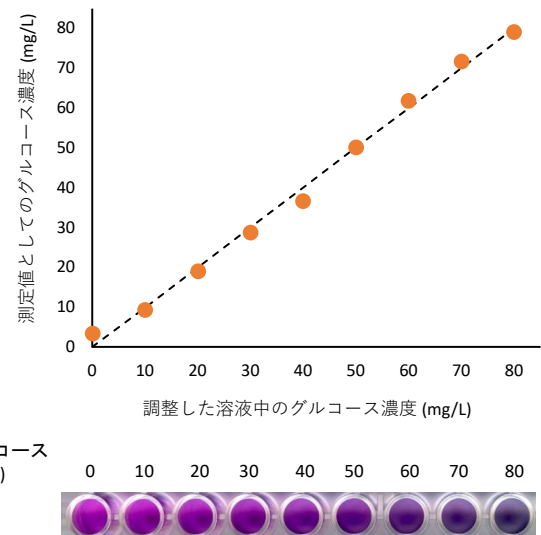


図 6 : 本研究手法での COD 測定

上段に、本研究手法でグルコース濃度を測定した結果を示す。下段には、各濃度のグルコース溶液の過マンガン酸カリウムでの呈色を示している。



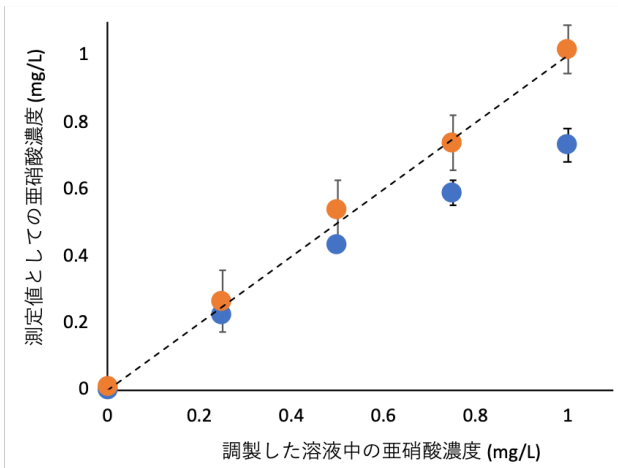
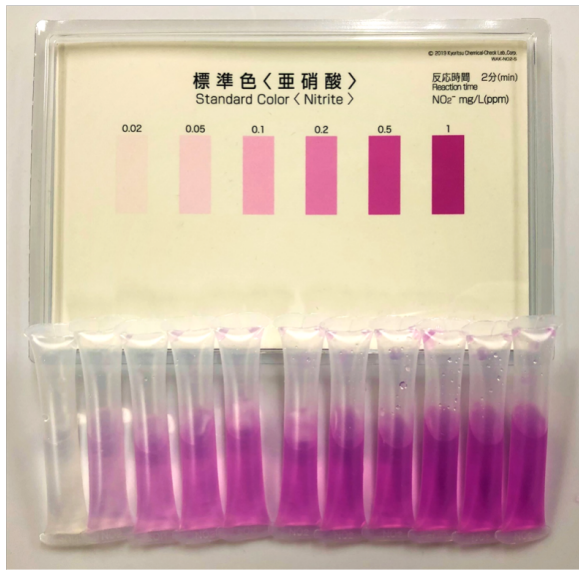


図7：パックテストでの亜硝酸ナトリウム濃度測定

上段に、0-1.0 mg/L 亜硝酸ナトリウム溶液のパックテストでの呈色を、標準色あわせて示している。右にいくほど、0.1 mg/L ずつ濃度の高い亜硝酸ナトリウム溶液の結果を示している。下段に、パックテスト（青色）及び本研究手法（橙色）での、亜硝酸ナトリウム濃度測定の結果を示している。

様に、80 mg/L までの各濃度のグルコース溶液を過マンガン酸カリウム水溶液と反応させることにより、グルコース濃度が大きくなるほど、直線的に呈色が強くなることを確認できた（図6）。したがって、これら濃度範囲での亜硝酸およびCODを、本手法で定量できることを明らかにした。



図8：パックテストでのCOD測定

0-100 mg/L グルコース溶液のパックテストでの呈色を、標準色あわせて示している。右にいくほど、10 mg/L ずつ濃度の高い亜硝酸ナトリウム溶液の結果を示している。

### 3.3. 化合物濃度測定における本研究手法とパックテストとの比較

簡易化合物濃度測定キットであるパックテスト WAK-NO<sub>2</sub>（株式会社共立理化学研究所）を用いて、標準色と比較することで、1 mg/L までの各濃度の亜硝酸ナトリウムを測定した。0.1-0.5 mg/L の間のおおまかな呈色の変化を観察することはできた。一方で0.5 mg/L 以上の呈色変化を目視で区別することは難しかった（図7）。株式会社共立理化学研究所が提供するスマートフォンアプリ「スマートパックテスト」を用いることでより正確な測定が可能になるが、この場合も0.5 mg/L 以上の亜硝酸ナトリウムを測定することは難しかった。パックテストによる濃度測定では、0.5 mg/L 以上の亜硝酸ナトリウム溶液について、濃度を過小評価する傾向があることがわかった。一方で、本研究手法を用いた場合、5.0 mg/L の亜硝酸溶液の濃度を、正確に定量できることがわかった（図5、7）。

同様にパックテスト WAK-COD-2 を用いて、グルコース溶液を用いてCODを測定した。0、10、20 mg/L グルコースを、標準色との比較およびスマートパックテストによって測定することができたが、それ以

表 1 : 亜硝酸ナトリウム濃度測定における本研究手法とパックテストとの比較

	本研究手法	パックテスト WAK-NO2
測定範囲	0-5.0 mg/L	0-0.5 mg/L
測定時間	約 30 分間	約 10 分間
測定結果の 正確さ	◎	○
1 試料の測定 に必要な費用	約 2 円	約 100 円

上の濃度のグルコースを測定することは難しかった (図 8)。一方で、本研究手法では 80 mg/L グルコースまでを測定することができた (図 6)。以上の結果で示す通り、パックテストは簡易な化合物濃度測定法として非常に有用であるが、その測定濃度範囲は狭いという特徴がある。

環境水として、たとえば宮城は、地下水中に 5-12 mg/L ほどの亜硝酸が含まれていることを報告している (宮城, 2013)。また同様に梅田らは、農村部の地下水中に約 30 mg/L の亜硝酸が含まれていることを報告している (梅田ら, 2004)。環境省が定める一般排水基準では、亜硝酸化合物及び硝酸化合物の許容限度は 100 mg/L とされている。環境水中の COD 測定について、工業排水や工業用水、生活用水中の COD として約 50 mg/L の濃度を報告されている。特に、染色工場の排水では COD 値は大きく、130-500 mg/L の濃度が報告されている (大森, 1979)。環境省による COD の一般排水基準は 160 mg/L (日間平均 120 mg/L) とされている。

本研究で用いたパックテストで正確に測定できる亜硝酸ナトリウム濃度の測定範囲は 0.02-0.5 mg/L、COD の測定範囲は 5-50 mg/L だった (図 7、8)。一方、本研究で示した方法 (図 1) では、5.0 mg/L までの亜硝酸ナトリウム濃度、80 mg/L までの COD の測定が可能であることを確認した (図 5、6)。上述の通り、環境水中の亜硝酸および COD 値は大きく、したがって、環境水を希釈して目的化合物濃度を測定する際に、測定範囲が広いことは大きなメリットになる。

また、1 試料の測定に必要な費用について、算出した。パックテストでは 1 試料あたり約 100 円が必要である。本研究手法で試薬にかかる費用は 1 試料あたり約 2 円であり、パックテストと比較して測定コストは 1/50 である (表 1)。予算の制約がある学校教育現場において、多人数の高校生を対象とする高校探究型学習を実施するにあたり、測定コストが小さいことは、非常に重要だと考えている。

#### 4. 結論

今後多くの高等学校において探究型学習が行われるものと考えられるが、化学分野での探究型学習に必要な化合物濃度測定を高校で実施することは難しい。本研究では、多くの高等学校が所有しているスキャナー・パソコン、及び無料の画像解析を用いた、探究型学習に利用することのできる化合物濃度測定法を提案した。本研究手法によって、水溶液中のデンプン濃度、亜硝酸濃度、COD 値を、安価に測定できることを明らかにした (表 1)。これら化合物に限らず、濃度に応じた呈色反応を活用して、多様な化合物濃度を本研究手法で測定できるものと考えられる。本研究で提案する化合物濃度測定法は、多くの高校で化学分野の探究型学習を活発化させるために重要な方法となる。

#### 参考文献

- 文部科学省 (2018). 高等学校学習指導要領  
日本経済団体連合会 (2018). 高等教育に関するアンケート結果  
田口哲・笠野恵子 (2001). CCDカメラとコンピュータを用いた画像解析法による反応速度測定教材の開発, 化学と教育, 49, 158-159.  
菊地洋一・柿崎仁美・井上祥史・武井隆明・村上祐 (2002). デジタルカメラと画像処理ソフトを用いた天然水中の微量鉄の定量, 化学と教育, 50, 714-717.  
古賀信吉・宇都岡貴秀 (2004). RGB値のスペクル変換による簡易可視分光法の化学実験への応用, 化学と教育, 52(11), 771-77.  
小池守・高津戸秀 (2006). 自作の画像解析ソフトウェアとスキャナを用いた水質調査の教材化 — 河川水中の亜硝酸イオン濃度の測定実験を通して —, 理科教育学研究, 46(3), 25-31.

- Kohl, S. K., Landmark, J.D. Stickle, D.F. (2006).  
Demonstration of Absorbance Using Digital  
Color Image Analysis and Colored Solutions, *J.  
Chem. Educ.*, 83, 644-646.
- 光永伸一郎 (2016). アミラーゼと発酵食品 – 教員  
養成と教科開発の視点から –, *日本家政学会誌*,  
67(8), 479-482.
- 山家泰輔・胸組虎胤・手束祐太・三矢菜摘・宍野彰彦・  
寺島幸生・粟田高明 (2019). 唾液と洗剤中の  $\alpha$ -  
アミラーゼの反応比較で消化と酵素の理解を深  
める実験授業, *鳴門教育大学授業実践研究 – 授  
業改善をめざして –*, 18, 99-102.
- 宮城俊彦 (2013). 平成元年度から22年度までの沖縄  
県における地下水水質調査, *水環境学会誌*,  
36(4), 129-135.
- 梅田直人・村上哲・安原一哉・小峯秀雄 (2004). 農  
村部における硝酸性窒素及び亜硝酸性窒素濃度  
に関する地下水水質調査の動態計測, *地盤工学研  
究発表会発表講演集*, 1165-166.
- 大森正男 (1979). COD 測定に関する二、三の考察 -  
水質総量規制の実施にあたって, *環境技術*, 8(6),  
589-602.