

熊本市環境水と水生植物に関する教材開発

○芹田 陽^{*1}・正元 和盛

SERITA akira, MASAMOTO kazumori

熊本大学教育学部理科教育（生物）

【キーワード】硝酸イオン、パックテスト、分光光度計、環境水、オオカナダモ

1. はじめに

「中学校学習指導要領（平成 10 年 12 月）解説理科編」¹⁾では、中学校理科における改善として、「観察・実験などを一層重視し、科学的な見方や考え方、自然に対する総合的なものの見方を育てること」、「野外観察を一層重視するとともに、生徒自ら観察や実験の方法を工夫したりして課題解決を行うこと」などが挙げられている。また、総合的な学習の時間では、その学習内容の一例として環境が挙げられており、環境学習は身近な自然を学習する上で重要な分野となっている²⁾。中学校理科 2 分野の教科書では、発展的な学習内容として窒素の循環をとりあげているものもある^{3, 4)}。

2. 本研究の目的

本研究では、中学校理科第 2 分野における「自然と環境」の分野での発展的な学習、総合的な学習の時間に向けて植物と自然環境に関連した教材開発を行った。その一例として、市販のパックテストを用いて熊本市の地下水や河川水などに含まれている硝酸イオンを測定し、水生植物が硝酸イオンを養分として取り込み生長していることを中心に解析した。それに加え、熊本市内の地下水や河川水に含まれる無機態窒素の濃度を定期的に測定し、熊本市内を流れる環境水（河川水や湧き水など人為的に物質が混入されていない水）の基礎データを集めた。さらに環境水で測定したデータをもとに、オオカナダモの培養実験を行った。

3. 方法

1. 環境水の採取方法

熊本市内の環境水を 2005 年の 1 月から 2006 年 2 月まで月に一度各場所から採取した。採取し

た場所は江津湖 3 箇所（砂取橋、江津斉藤橋、下画図橋）、白川 2 箇所（龍神橋、武蔵橋）、八景水谷、健軍（熊本市動植物園駐車場北にある湧水）の合計 7 箇所から採取した。環境水を採取する日はおおよそ毎月上旬から中旬であったが、降雨など天気による影響を考慮して、採取日も含めた前 3 日間がなるべく晴れている日を選んだ。採集方法として、砂取橋と健軍では直接 50ml ファルコンチューブで採取したが、その他の場所では金属製のバケツにロープを結んだものを橋の上から落とし、バケツですくい上げた水をファルコンチューブに採取した。なお、環境水中の無機態窒素は微生物の影響をすぐに受ける⁵⁾ため、採取後は保冷剤入りの発泡スチロール箱に入れて運搬した。

2. 環境水の測定項目と方法

各場所で毎月採取した環境水について、硝酸イオン、亜硝酸イオン、アンモニウムイオンの濃度、pH、水温の 5 項目について測定した。なお、毎月採取した環境水は採取した日かその翌日には測定した。測定時は前処理として、約 10 分間の遠心分離（5000rpm, O5P-21; HITACHI）を行い、環境水中に浮遊しているものを沈殿させた。

1) 硝酸イオン、アンモニウムイオン

パックテスト（共立理化学研究所）に遠心分離させた環境水を 2 ml 加えて 5 分間発色させた溶液を、分光光度計（UV-2200; 島津）で測定した。測定には各発色のピーク波長を測定し、硝酸イオンで 545nm (A_{545})、アンモニウムイオンで 645nm (A_{645}) の吸光度を測定した。 A_{545} 、 A_{645} は作製した検量線を使って各イオンの濃度に換算した。

2) 亜硝酸イオン

ザルツマン試薬水溶液（濃度 0.2g/ml）0.5ml と環境水 0.5ml を混ぜてから 5 分後、545nm の

*1: 現所属 天草市立本渡中学校・教諭

吸光度 (A_{545}) を分光光度計で測定した⁶⁾。測定した値は作製した検量線を用いて亜硝酸イオン濃度に換算した。

3) pH と水温

pH は pH メータ (twin pH B-212; HORIBA), 水温はアルコール温度計 (TA-21; 中村理科機器) で測定した。なお、これらの測定項目のうち、水温だけは各採取地で測定を行った。

3. 実験の条件

1) 培養液の採取と調整

砂取橋 (江津湖)、武蔵橋 (白川) で採取した環境水を、測定用の環境水と同様の方法で採取運搬し、オートクレーブ (高圧滅菌機 HA-24; 平山製作所) で滅菌した溶液を培養液の原液とした。なお、滅菌した培養液の硝酸イオン濃度は滅菌前とほとんど同じであった。培養液の硝酸イオン濃度を基準として、1 倍 (培養液そのもの) と、その 5~100 倍の数段階の硝酸イオン溶液を設定し、設定した硝酸イオン濃度になるよう、培養液にはあらかじめ硝酸イオン濃度を 10000ppm に調整した硝酸ナトリウム水溶液 (和光純薬) を加えた。

2) 培養条件

培養液に硝酸ナトリウム水溶液を加えて調整した溶液を、透明なプラスチック容器に 200ml ずつ入れた。その各培養液に、頂端から 5cm に切り取ったオオカナダモを 2 本ずつ入れ、自然光条件下 ($800 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) で水温 25℃ 前後、または恒温培養室 ($40 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) で水温 25℃ の条件で 2 週間から 4 週間培養した。また、夏場に培養する際は、直射日光による水温の上昇を防ぐために深さ 14cm のプラスチック製のコンテナ (PT-28C; ヤザキ) に培養液の入った容器が倒れない程度に水道水を入れ、定期的に交換して培養液の温度の急激な変化を防いだ。なお、硝酸イオン濃度 1 倍の対象として、オオカナダモをいれず培養液のみを入れたもの (以下、コントロール) も追加した。

3) 測定方法

オオカナダモと培養液について、1 週間おきに硝酸イオン濃度とオオカナダモの長さを測定した。硝酸イオン濃度はパックテストによる発色を分光光度計で測定したが、設定した硝酸イオン濃度が 50ppm を超えている培養液については、測定前に培養液を採取し 0~50ppm の範囲に希釈したものをパックテストで発色させた。オオカナダモによ

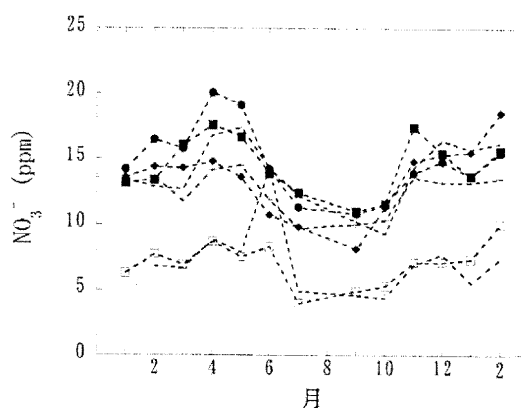


図1 各地点での硝酸イオンの月ごとの推移

2005 年 1 月から 2006 年 2 月まで、熊本市内の江津湖 (● (砂取橋), ■ (江津斉藤橋), ◆ (下画図橋)), 白川 (□ (龍神橋), ◇ (武蔵橋)), 八景水谷水源 (×), 健軍水源 (+) の合計 7 箇所から月ごとに環境水を採取し、硝酸イオン濃度を測定した。なお、8 月は未記入。

る硝酸イオンの取り込み量は、調整後の硝酸イオン濃度から培養した後の溶液の硝酸イオンの濃度を、コントロールの減少した量と合わせて減算し、取り込み量とした。また、オオカナダモの長さの測定はものさしを使って頂端から茎の長さを測定した。オオカナダモによっては培養中に頂端の伸長だけでなく側芽が出てくるものもあったが、側芽の長さも生長と考えて加算した。また、オオカナダモによっては同じ培養液でもその伸び具合が同じでなかったため、各培養液には切ったオオカナダモを 2 本ずつ入れ、その伸びを測定して合計した値をオオカナダモの生長とした。

4. 結果と考察

1. 熊本市環境水の無機態窒素の測定

パックテスト及びザルツマン試薬を用いて、7 箇所の環境水に含まれる無機窒素化合物の濃度を分光光度計で測定した (図 1)。砂取橋をはじめとする江津湖を流れる環境水の硝酸イオン濃度は約 15ppm、白川 (武蔵橋、龍神橋) の硝酸イオン濃度は約 7ppm であった。オオカナダモの培養実験で環境水を使用する際は、これらの濃度を基準にして設定した。なお、本研究の硝酸イオン測定結果について信頼性を確認するために、熊本県や熊本市水道局が公開している水質測定値を参照した^{7, 8)}。熊本県や熊本市水道局が測定した硝酸性窒素濃度は、イオンクロマトグラフ法によって測定

表1 他機関が測定した硝酸イオン値と本研究での測定値との相関

熊本県及び熊本市の平成15年度の測定値を硝酸イオン濃度に換算した値の平均(1))と、本研究で平成16年に測定した値の平均値(2))を測定場所ごとに並べた。「-」は各測定場所での未測定を示している。

測定場所		1)	2)
		ppm	
江津湖	砂取橋	15.0	14.7
	江津斉藤橋	-	14.4
	下画面橋	-	12.8
	秋津橋	11.7	-
白川	吉原橋	4.9	-
	下戸橋	4.4	-
	武蔵橋	-	7.3
	龍神橋	-	6.7
水源	八景水谷	10.0	13.6
	健軍	12.4	12.3

されており⁸⁾、本研究とは測定法が異なる。測定回数について、本研究は毎月上旬から中旬に環境水の採取及び測定したが、各行政機関が行う水質測定は江津湖を流れる加勢川で3カ月に1回(年に4回)の測定、白川で年に1回測定されている。これらの測定値を硝酸イオン濃度に換算した値と本研究の硝酸イオン測定値を採取場所ごとにまとめた(表1)。各採取場所での月ごとの変動を考慮すると本研究で測定した硝酸イオン濃度は、熊本県や熊本市水道局が行っている水質検査の結果とほぼ一致している。また、本研究の測定方法を学校教材として活用する際、測定機器の有無の問題が生じるが、分光光度計の代用品として、分光光度計と相関のある簡易比色計の利用でこの問題は解決できると考えられる⁶⁾。測定項目の中でも亜硝酸イオンはごく微量に検出された。アンモニウムイオンは発色が肉眼で観察されず、分光光度計で測定してもほとんど検出されなかった。水温は白川では10~30℃と季節によって変動があるが、その他の地点では20℃前後であった。また、pHはどの測定点でも7.3±0.3であった。

2. オオカナダモによる硝酸イオン取り込み

砂取橋、武蔵橋で採取した環境水を用いて各濃度の硝酸イオン濃度にした培養液でオオカナダモ

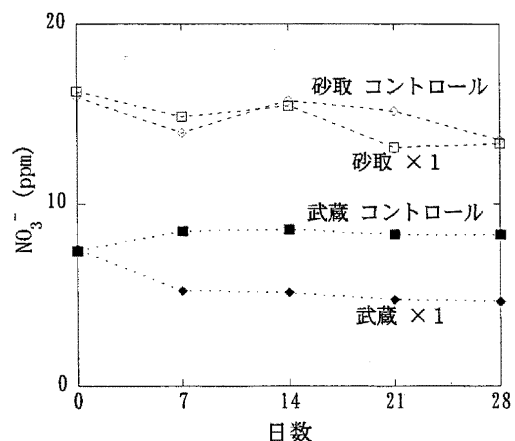


図2 オオカナダモの硝酸イオン取り込み

培養液中の硝酸イオン濃度を一週間おきにパックテストで測定した。砂取橋、武蔵橋で採取した培養液のコントロールと1倍におけるオオカナダモ培養液中の硝酸イオン濃度の変化を示している。

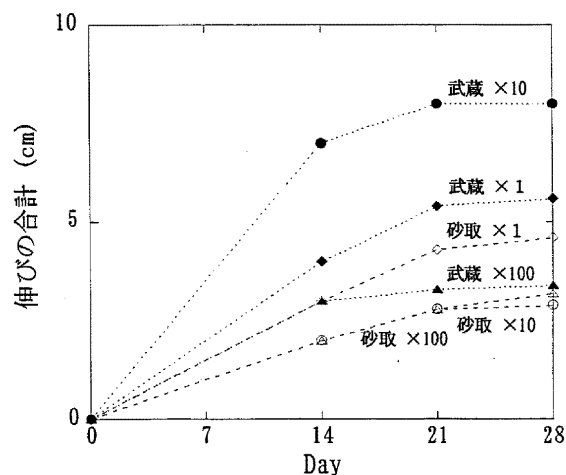


図3 培養期間でのオオカナダモの伸び

各培養液にいたオオカナダモの長さを測定し、2本の伸びた合計をプロットした。条件は図2に同じ。

を4週間培養した(図2)。どの培養液でも硝酸イオン濃度が減少していたことから、オオカナダモは硝酸イオンを取り込んでいるが、培養期間中に硝酸イオンがすべて取り込まれてはいなかった。高濃度の硝酸イオン測定は培養液を測定範囲までに希釈して測定を行ったため、値のばらつきが大きかった。

3. 硝酸イオンによるオオカナダモの生長

各培養液中のオオカナダモについて、その伸びを一週間ごとに測定した(図3)。培養2週間目以降はオオカナダモの伸びが顕著に増加しなかったことから、この実験における培養期間は2週間で十

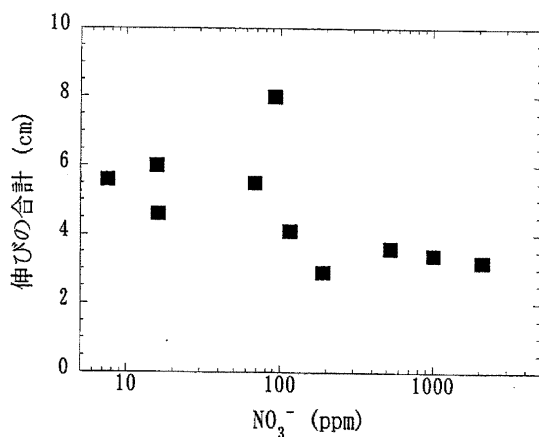


図4 硝酸イオン濃度とオオカナダモの伸び

各光条件，硝酸イオン条件で培養したオオカナダモについて，オオカナダモの伸びの合計を調整した硝酸イオン濃度ごとにプロットした。

分だと思われる。オオカナダモの伸びの合計と硝酸イオンの濃度の関係をみると，硝酸イオン濃度が環境水の1倍よりも武蔵橋10倍のように硝酸イオン濃度をある程度高く設定した培養液のオオカナダモが生長しているが，砂取橋，武蔵橋の100倍のように硝酸イオン濃度が高すぎると1倍よりも生長していない。そこで培養期間2週間で自然光条件下と恒温培養室で同様の培養を行い，硝酸イオン濃度とオオカナダモの伸びの合計を測定した(図4)。100ppmを境にオオカナダモの伸びの傾向が大きく異なっており，100ppm未満ではオオカナダモはよく伸びているのに対して，100ppm以上の範囲ではそれに対してあまり伸びなかった。このことからオオカナダモの硝酸イオン取り込み能力としては，現在の砂取橋の硝酸イオン濃度から100ppm近くの範囲で飽和に達していると考えられる。また，オオカナダモの生長には，現在の環境水の硝酸イオン濃度がオオカナダモの生長にとって十分な濃度であり，そこから濃度が高くなるとその生長が逆に阻害されると考えられる。

5. 結論

中学校第2分野の「自然と環境」の分野における発展的な学習内容としての教材の開発を目的として研究を行った。身近な環境水に含まれる無機態窒素である硝酸イオンとアンモニウムイオンを測定するために，市販のパックテストと分光光度計を用いて，基礎データを収集し，測定方法を確

立した。その方法を用いて熊本市内の環境水を毎月採取し，環境水中に含まれる硝酸イオン，亜硝酸イオン，アンモニウムイオンなどを測定，江津湖と白川に含まれる硝酸イオン濃度の平均値を決定した。

江津湖に繁茂しているオオカナダモを用いた培養などでオオカナダモは水中の硝酸イオンを吸収して生長していることが確認できた。また，江津湖と白川に含まれる硝酸イオン濃度でオオカナダモが生育するための硝酸イオン濃度としては，ほぼ飽和に達していることがわかった。身近な環境水の水質調査やそこに繁茂している水生植物を用いることで，生徒は身近な自然に対する興味関心や理解を深める一助になると考える。

6. 今後の課題

今後は環境水に含まれる植物の栄養分についてリン酸測定も視野に入れた測定を行い，熊本市環境水を利用している水生植物にとっての生育の律速因子を決定することが必要である。また，定量性を小中学校で行うには少なくとも分光器に変わる簡易比色計の活用が必要で，その実用性は確かめである⁹⁾。今回の内容を用いて小中学校で授業実践を行い，どのような教育効果があるかを調べるのが課題である。

7. 文献

- 1) 文部科学省(平成11年)「中学校学習指導要領(平成10年12月)解説—理科編—pp.2-5, 129-131 大日本図書
- 2) 文部科学省(平成14年)「個に応じた指導に関する指導資料—発展的な学習や補充的な学習の推進—(小学校理科編)」pp.105-113
- 3) 竹内敬人ほか(2005)「未来へひろがるサイエンス第2分野(下)」pp.109,111 啓林館
- 4) 左巻健男・市川智史(1999)第2章大気 かんたんな二酸化窒素の測りかた「誰にでもできる環境調査マニュアル」pp.64-84 東京書籍
- 5) 半谷高久ほか(1999)5.現地の作業「水質調査ガイドブック」p.53 丸善
- 6) 芹田陽(2003)「植物による亜硝酸イオンの取り込み」平成15年度熊大教育学部卒業論文
- 7) 熊本県(平成16年)「水質調査報告書」pp.63-64
- 8) 熊本市水道局(平成17年)「平成15年度水質試験年報」pp.6, 74, 212
- 9) 吉田誠治・松井明・正元和盛(2004)「自作簡易比色計による二酸化窒素測定を取り入れた小学校理科授業開発」熊本大学教育実践研究 21:139-143