

教育課題探究 「浸透圧実験におけるニワトリの軟卵の活用例」

Application of eggs without hard-shell for the experiment of osmotic pressure

自然系コース 宇都宮 勉
教育臨床コース 下司 清史
自然系コース 西川 智行

I はじめに

高等学校生物の実験では、定量的な実験が極めて少ない。これは、現象・事象の観察を主とする生物学の特徴がゆえと思われるが、中でも新教育課程における細胞の浸透圧に関する項目：「原形質分離の観察」では、浸透圧と細胞体積の関係、いわゆるP V曲線にさえもほとんど触れなくなっているのが現状である。そこで、生体膜の一つであるニワトリの軟卵の卵殻膜を活用して定量的な手法を取り入れた。50分の授業時間内で完了できる実験例の試作を模索することを目的として、探究活動に取り組んだので、ここに報告する。軟卵とは、養鶏場のニワトリが産み落とす正常な卵に比べて、外殻層が極めて薄い卵のことをいう（図1）。外見上は、正常卵を酢酸に長時間浸して外殻を溶かした結果、卵殻膜が表面に現れている状態のものと極めて酷似している。軟卵が形成される原因については不明であるが、養鶏場（ホワイトレグホーン）などでは、ある程度の頻度で産卵される。前もって養鶏場などに依頼しておけば、比較的容易に入手できるので、1年をとおして実験のために新鮮な軟卵を確保できる。本研究では、香川県立農業経営高等学校に軟卵の確保を依頼し、養鶏実習場より提供していただいたものを活用した。

実験1系では、軟卵の浸透現象に関する予備実験を行い、実験2系では、生徒実験を想定した実験を行った。

II 研究の過程

実験1-1 軟卵の時間経過に伴う吸水について ＜方法＞

軟卵における浸透現象を扱う上で、吸水あるいは脱水などの浸透現象が本当に起こっているかどうかを確かめると同時に、吸水速度（または吸水量）を確認するために、軟卵を蒸留水に浸した時の経過時間と軟卵の体積変化の関係を調べた。軟卵の体積測定方法として、メスシリンダーを用いて、浸していた液に軟卵を沈め、前後の体積変化を測定した（図2）。ただし、すべて室温で操作した。

また、軟卵表面にわずかに残っている卵殻成分が実験に及ぼす影響を調べるために、濃酢酸で30分処理したものでも測定した。



図1．軟卵の構造および外見

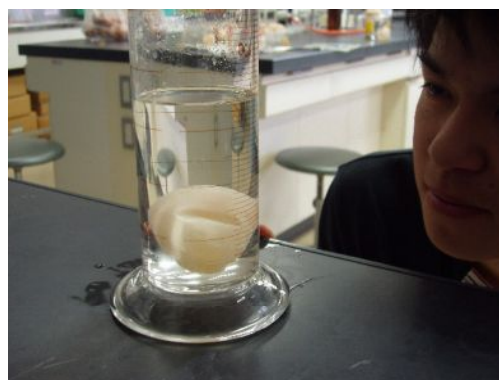


図2．軟卵の体積測定

< 結果 >

表 1. Normal 軟卵を蒸留水へ浸したときの経過時間と体積変化の関係 (図 3)

経過時間 [分]	0	45	60
体積変化 [ml]	53.2	59.3	59.6

表 2. conc.酢酸に 30 分浸した軟卵を蒸留水に浸したときの経過時間と体積変化の関係 (図 3)

経過時間 [分]	0	5	35	60
体積変化 [ml]	49.6	51.7	53.4	54.3

< 考察 >

- ① 軟卵は約 40 ~ 50 分間で吸水はほぼ平衡状態になることがわかった。
- ② 軟卵への conc.酢酸処理は、吸水減少の促進に何ら影響しないことがわかった。
- ③ 酢酸処理軟卵の体積増加量が少なかったことは、酢酸処理中に酢酸に含まれる水が軟卵に吸収されたためと考えられる。

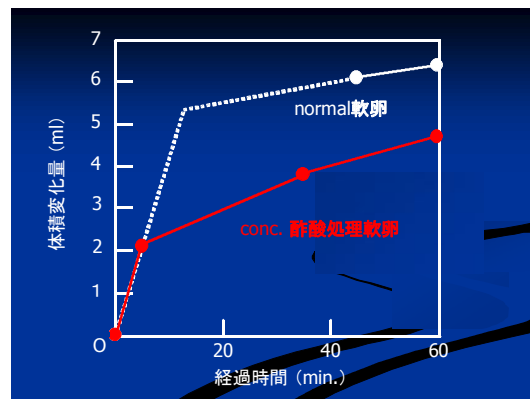


図 3. 軟卵の時間経過に伴う吸水について

実験 1 - 2 軟卵の時間経過に伴う脱水について

< 方法 >

軟卵の脱水速度 (または吸水量) を確認するために、軟卵を飽和食塩水 (約 20%) に浸し、経過時間と軟卵の体積変化の関係を調べた。軟卵の体積測定方法は、実験 1 - 1 と同様である。

< 結果 >

表 3. 軟卵を飽和食塩水 (約 20%) へ浸したときの経過時間と体積変化の関係 (図 4)

経過時間 [分]	0	25	35	45	60
体積変化 [ml]	55.2	53.4	54.6	56.7	57.3

< 考察 >

- ① 軟卵は約 30 分までは脱水により体積が減少するが、その後、吸水をはじめ体積が増加してしまうことがわかった。
- ② これは、卵殻膜が NaCl のような電解質に対しては全透性を示すことによると考えられる。30 分経過頃から溶質 (NaCl) が軟卵内に透過して浸透圧を上昇させることにより、吸水が起こり、体積の増加に転じたものと考えられる。植物細胞を尿素溶液などに浸したときに観察される“原形質復帰”と同様な現象が観察されたことから、卵殻膜は、塩化ナトリウムのような電解質を容易に透過させるほど大きな孔をもった生体膜であることが確認された (図 5)。

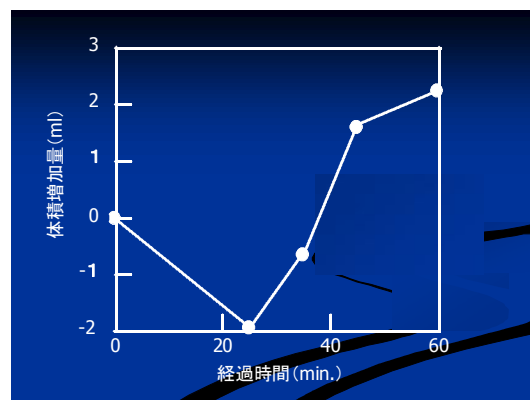


図 4. 飽和食塩水による脱水作用

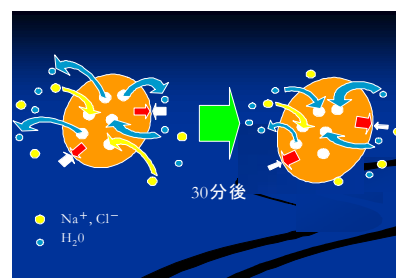


図 5. 卵殻膜における NaCl の浸透

実験 1－3 スクロース溶液および蒸留水に浸したときの軟卵の時間経過に伴う体積変化について

＜方法＞

軟卵の脱水および吸水が連続して起こるかを確認するために、最初に軟卵をスクロース溶液（約 45%）に約 60 分間浸し、その後、蒸留水に約 60 分間浸し、経過時間と軟卵の体積変化の関係を調べた。

実験前日に採取された軟卵(A)、実験前日に採取された軟卵の卵黄(B)、実験 3 日前に採取された軟卵(C)、実験 10 日前に採取された軟卵(D)でそれぞれ実験したが、そのうち軟卵 C と D は、最初に蒸留水に浸したのち、45%スクロース溶液に浸した。軟卵の体積測定方法は、実験 1 と同様である。



図 6．45%スクロース溶液の調整

＜結果＞

表 4．軟卵および卵黄をスクロース溶液（約 45%）→蒸留水の順に浸したときの経過時間と体積変化（図 7）

軟卵（A）

浸した外液	45%スクロース溶液			蒸留水	
経過時間〔分〕	0	45	60	105	120
体積変化〔ml〕	52.1	49.5	48.3	54.6	56.6

軟卵の卵黄（B）

浸した外液	45%スクロース溶液			蒸留水	
経過時間〔分〕	0	45	60	105	120
体積変化〔ml〕	17.4	14.4	15.1	18.0	18.0

表 5．軟卵を蒸留水→スクロース溶液（約 45%）の順に浸したときの経過時間と体積変化の関係（図 8）

産卵 3 日後軟卵(C)

浸した外液	蒸留水			45%スクロース溶液	
経過時間〔分〕	0	45	60	105	120
体積変化〔ml〕	48.5	56.4	57.2	54.1	48.6

産卵 10 日後軟卵(D)

浸した外液	蒸留水			45%スクロース溶液	
経過時間〔分〕	0	45	60	105	120
体積変化〔ml〕	49.4	53.6	53.8	50.7	49.4

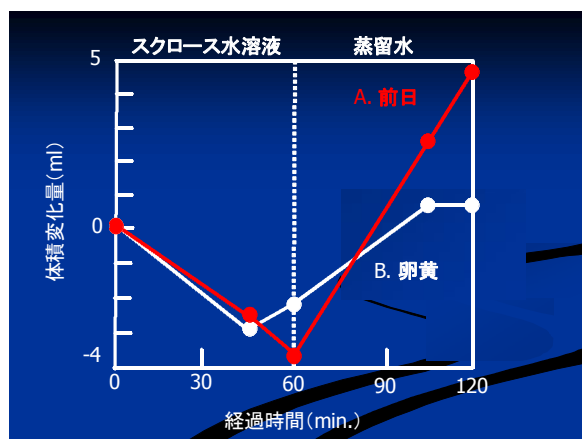


図 7．スクロース溶液→蒸留水連続実験

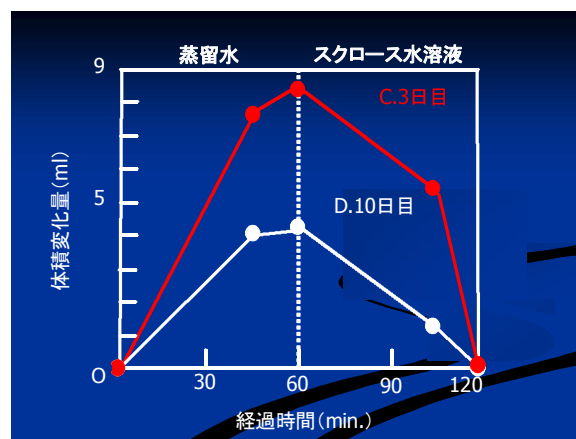


図 8．蒸留水→スクロース溶液連続実験

< 考察 >

- ① スクロース程度の分子量をもった溶質では、卵殻膜を透過することはなく、浸透現象が観察された。
- ② 各軟卵により体積に個体差はあるものの、産卵から 10 日までの軟卵では、脱水→吸水、あるいは吸水→脱水は、ともに連続して起こることがわかった。しかしながら、ある濃度の溶液に浸して平衡状態になるまでには短くても約 45 分以上かかるので、1 つの軟卵を様々な濃度の溶液に浸して描かれる P V 曲線を 50 分間の授業内でプロットすることはできない。
- ③ 卵黄でも、同様に浸透現象は起こるし、浸透速度も大きいので、より短時間で結果が判明する。しかし、時間経過とともに卵黄表面の白濁および硬化がすすみ、2 時間後にはほとんど吸水が起こらなくなった。明らかに卵黄は、スクロース溶液により変性を受けるので実験に不適切であると判断できる。
- ④ 3 日目の軟卵よりも 10 日目の軟卵の方が、吸水量が多いことから、古い軟卵では透過能力が低下したと考えられる。このことから、実験に用いる軟卵は、なるべく新鮮なものを使う方が望ましいといえる。

実験 2 - 1 生徒実験の想定…各班 1 個の軟卵の浸透現象を測定 (in vivo)

< 方法 >

軟卵毎で含水分量に個体差があり、卵内浸透圧が異なるので、すべての軟卵を予め蒸留水に約 3 時間浸して、十分に吸水させた軟卵を 7 つ用意した。それぞれを 70 %、60 %、50 %、40 %、30 %、20 %、10 % のスクロース溶液に一斉に 50 分間浸して、体積変化 (脱水) の様子を測定した (図 9)。

< 結果 >

十分に吸水させた実験開始前の軟卵の体積にもまた個体差があるので、横軸データを体積の変化率 (= 50 分間スクロース溶液に浸した後の体積 : B / 実験開始前の軟卵の体積 : A) としてグラフ処理を行った。

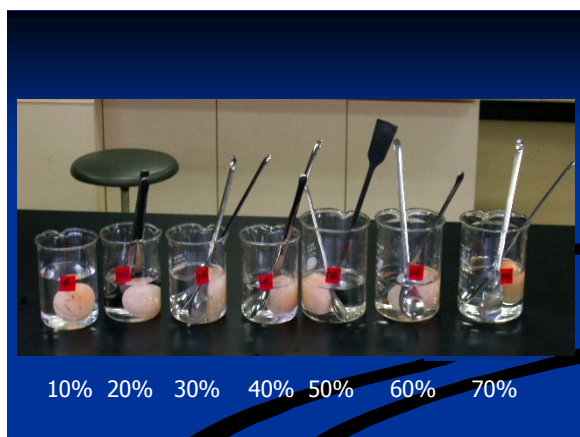


図 9. 異なる濃度による脱水作用

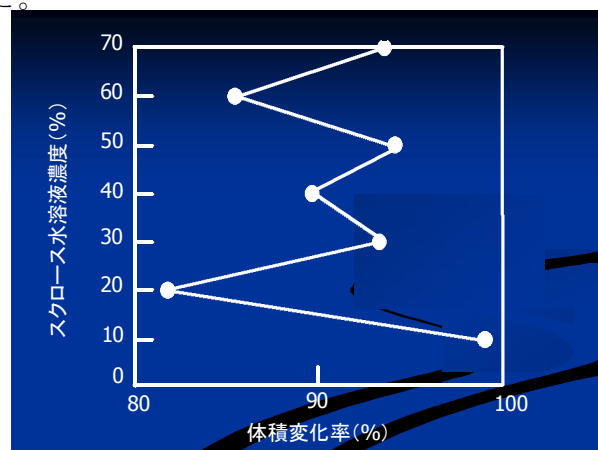


図 10. 軟卵における水溶液濃度と体積変化の関係

表 6. 複数の軟卵における体積変化とスクロース溶液濃度の関係 (図 10)

浸したスクロース濃度 [%]	10	20	30	40	50	60	70
浸す前の体積 : A [ml]	59.9	63.3	60.4	41.7	50.2	66.6	58.2
50 分後の体積 : B [ml]	59.6	51.6	56.5	37.4	47.4	56.8	54.6
体積変化 [ml]	0.4	11.7	3.9	4.3	2.8	9.8	3.6
体積変化率 : A/B × 100 [%]	99.5	81.5	93.5	89.7	94.4	85.3	93.8

＜考察＞

- ① グラフからは、軟卵の体積と外液濃度との関係に何ら規則性は見いだせない結果となった（図 10）。
- ② これは、予め十分に吸水させても、軟卵内の浸透圧にかなりの個体差があることを示しているものと考察される。
- ③ 以上の結果から、*in vivo* での実験では規則性に乏しく、個体差も大きいことから、軟卵の卵殻膜だけを用いた *in vitro* による実験に切り替えて実施した方が望ましいと考える。

実験 2－2 生徒実験の想定…軟卵の卵殻膜を用いた浸透現象の実験例（*in vitro*）

＜方法＞

軟卵内に小さな穴をあけ、内容物（卵黄と卵白）をすべて排出させた卵殻膜を 5 つ用意した。その穴にストローを突き立てて、風呂糸で硬く結紮した（図 11）。5 つの軟卵内を 0 %、10 %、20 %、30 %、40 % のスクロース溶液でそれぞれ満たした後（図 12）、すべてを一斉に蒸留水に浸した（図 13）。軟卵内溶液のそれぞれの浸



図 11. 軟卵の卵殻膜を用いた浸透現象の実験

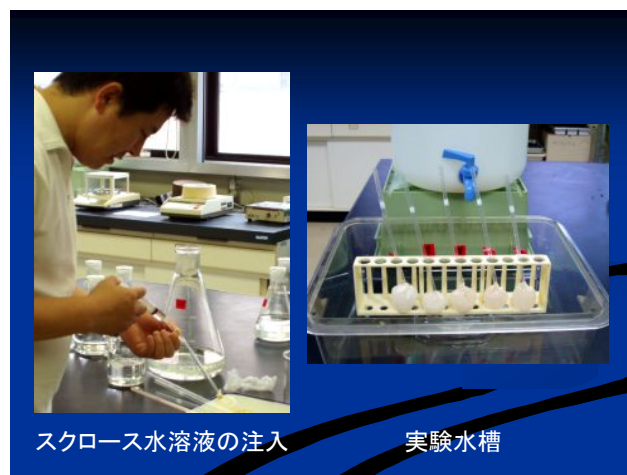


図 12. スクロース水溶液の注入と実験水槽

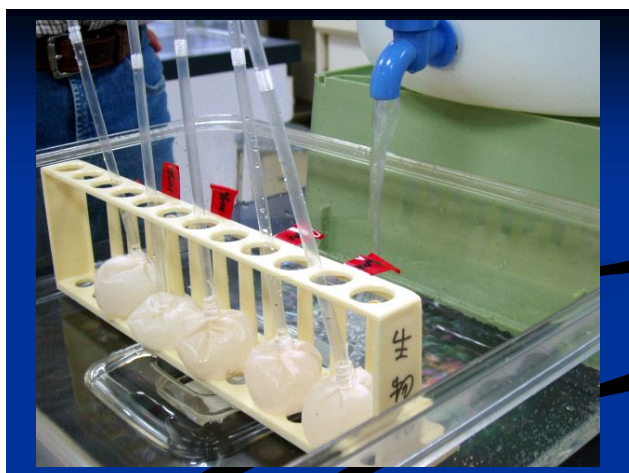


図 13. 蒸留水へ浸される軟卵の様子

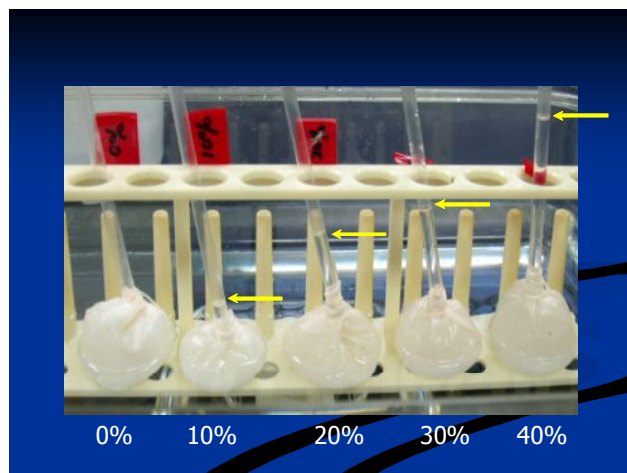


図 14. 水面上昇の様子

透圧（スクロース溶液濃度）に応じた浸透現象が起きるので、吸水によってストロー内を上昇した水面の位置（蒸留水とストロー内上昇面の距離）を測定した（図 14）。

< 結果 >

表 7. 軟卵内を満たしたスクロース溶液濃度とストロー内を上昇したスクロース溶液面の距離(浸透圧)の関係 (図 15.および図 16.)

軟卵内のスクロース溶液濃度 [%]	0	10	20	30	40
30 分後の上昇距離 [mm]	0	3.1	22.3	30.6	62.3
45 分後の上昇距離 [mm]	0	11.3	31.7	40.7	97.2
60 分後の上昇距離 [mm]	0	27.3	45.8	65.9	148.4

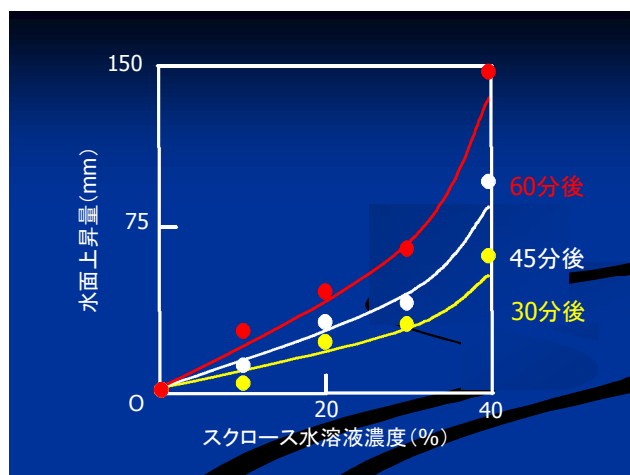


図 15. スクロース水溶液濃度と水面上昇

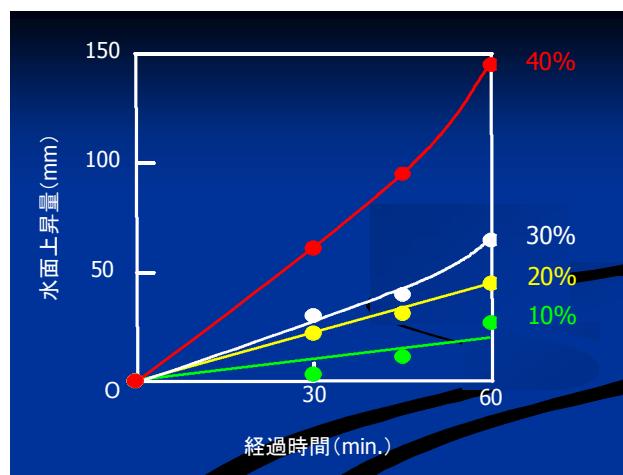


図 16. 時間経過に伴う水面上昇

< 考察 >

- ① 明らかにスクロース溶液濃度と浸透圧は、正の相関が見られた。一般に、低張液においてはファント・ホッフの式： $PV=nRT$ が成立する。これより、温度が一定であれば、 $P=kC$ (k : 比例定数) が導かれ、両者は正比例の関係であることが確かめられる (図 14)。
- ② 吸水開始から 60 分までは、濃度が高いほど、時間経過とともに吸水速度が増加する傾向が見られた (図 16)。本研究は、50 分の授業での実験を想定したので、60 以降のデータを取らなかったが、平衡状態に至るまでの時間を調査した上で、生徒実験に適したスクロース濃度を再検討することが必要かもしれない。
- ③ 軟卵内にスクロース溶液の代わりに KCl や NaCl 水溶液など様々な水溶液を入れて、同様の実験をすると、スクロースとの透過性の違いが考察できるのではないかと考えられる。

Ⅲ 実験方法の検討と今後の課題

1 実験上の留意点について

- ① 軟卵の中身を吸い出すときは、卵の鋭端側の先端に直径数 mm の小さな穴をあけ、そこから毛細管や針金などを突っ込み、卵黄をつぶしておいてから内容物をストローで吸い出す。そうしなければ、最後に残った卵黄が排出されるときに、小さな穴を破ってしまうことが多い。
- ② 卵白や卵黄による浸透圧への影響を防ぐために、最後は軟卵内を蒸留水で洗い流す。
- ③ 卵殻膜をストローに縛るときは、糸を何重にも巻いて、その上でしっかりと

結ぶ（図 17 - a）。

- ④ 卵殻膜をストローに縛るときは、ストローの先端が卵内の中央あたりになるまでストローを差し込んだ状態で縛っておいて、後から、ストローの先端が何重にも巻いた糸の最下部とほとんど一致する位置になるまで、ゆっくりとストローを引き上げる（図 17 - b）。

- ⑤ 軟卵内にスクロース溶液を注射器で注入するときは、ストローの内壁にスクロース溶液をつたわせながらゆっくりと注入する。

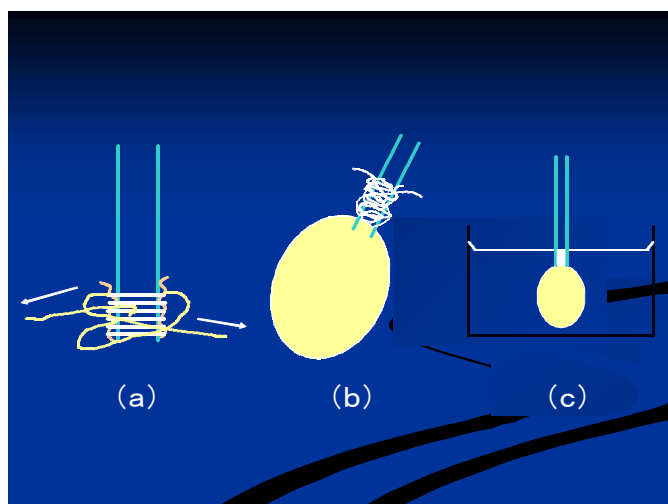


図 17. 実験操作上の留意点

- ⑥ 軟卵内へのスクロース溶液の注入では、できるだけ卵内の気泡を排除し、すべての軟卵のスクロース溶液面を一致させるのが望ましい。しかし、軟卵の大きさや卵殻膜の厚さに個体差があるので、それは極めて困難である。
- ⑦ スクロース溶液を満たした軟卵を蒸留水に浸すときは、スクロース溶液面まで浸すのが望ましい（図 17 - c）。しかし、結紮部からの蒸留水の滲入が予想される場合は、結紮部より下にする方が無難である。

2 実験上の改善点および発展性について

- ① 透明なストローを用いたが、透明なスクロース溶液の水面をもう少し認識しやすい色素を溶かしてはどうかと考える。ただし、浸透圧に影響を及ぼさない色素でなくてはならない。
- ② すべての卵内に一定濃度のスクロース溶液を満たし、それを様々な濃度のスクロース溶液に浸す方法も考えられる。
- ③ 留意点でも言及したが、各卵内のスクロース溶液面と外液の上流水面を一致させるための工夫が、より正確なグラフのプロットには重要課題である。

IV まとめ

当初の目的である *in vivo* における P V 曲線をプロットするには、本来ならば 1 個の軟卵を破ることなく、様々な濃度のスクロース溶液に浸し、それぞれの体積を測定すればよい。しかし、50 分間の授業時間内の実験例を探究したので、その実験には及ばなかった。当初は、*in vivo* のデータを有効に扱いたかったが、*in vitro* の実験でも透析膜のような人工半透膜ではなく、生物が生成した生体膜（卵殻膜）を用いることに、生きた教材を扱うという大きな意義を見出すことができるのではないかと考える。ただし、浸透圧に関する生徒理解を促すため本実験を採用するにあたり、留意しておきたいことが 1 点ある。それは、スクロース分子を透過させず、塩化ナトリウムや水分子を透過させるという“浸透現象”に関しては、卵殻膜は細胞膜とほとんど類似の性質を示すがゆえに、浸透現象を理解する教材として適しているの

であって、卵殻膜自体の成分や分子構造は細胞膜とはまったく異なるものであるということである。卵殻膜は後形質なので、どちらかというとも細胞膜より細胞壁などと同じ類の生体膜に属すると考える方が好ましいのではないだろうか。実験および説明をするときには、生徒が卵殻膜と細胞膜を同一視して混同することのないように留意する必要がある。

最後に、本研究の推進にあたりご指導を賜った米澤義彦教授をはじめ、清水宏次教授、小汐千春助手、軟卵提供の依頼に対して快く承諾を頂いた香川県立農業経営高等学校の方々に深く感謝する。

V 文献

- 岩波 洋造、1993. 絵を見てできる生物実験（講談社サイエンティフィク）. 森脇美武 講談社.
- 伏見 康治、1986. 卵の実験. 伏見 満枝 福音館書店
- 星野 剛、1986. 総合生物図録. 数研出版株式会社

VI Summary

At first a new process (*in vivo*) of quantitative experiment concerning osmotic pressure was attempted to make use of unique eggs of hen without hard-shell (termed "Soft-eggs"). But, we had to change into the protocol *in vitro* from *in vivo*, because we could obtain to be unsuccessful as a result of our initial trial.

Soft-eggs were evacuated their contents (yolk and albumen) from a small hole pierced at their tip, and were fixed a straw into those hole. Then those eggs individually were filled with succrose solution for 0-40% concentration. Shortly afterward they were simultaneously soaked in distilled water. Measuring the distance which the solution leveled up through a straw one hour later, we obtained a regularity as the result; the length of leveling up were 0mm, 27mm, 45mm, 65mm and 148mm with eggs inside the solution for 0%, 10%, 20%, 30% and 40% concentration, respectively. Therefore, we could provide an instance of the quantitative experiment on the osmotic pressure which soft-eggs were exploited as the teaching material within one hour lesson in high school.