

イオン液体を用いた生物試料形態の  
SEM 観察と SEM の学校教育への  
適用の検討

2022

兵庫教育大学大学院  
連合学校教育学研究科  
教科教育実践学専攻  
(鳴門教育大学)

山下 泰史

## 目次

第1章	序論	1
1.1	研究背景	1
1.2	研究目的	4
1.3	論文の構成	5
第2章	イオン液体とは	6
2.1	イオン液体の特徴	6
2.2	イオン液体の応用例	7
第3章	先行研究でのプランクトン観察のための最適化条件	8
3.1	はじめに	8
3.2	前処理の方法と手順	8
3.3	最適化のパラメータについて	10
3.4	動物性プランクトンと植物性プランクトンの違い	11
3.5	まとめ	13
第4章	イオン液体を用いた前処理による SEM 観察のための学校教育への適用	13
4.1	はじめに	13
4.2	中学校における実践授業（座学と実習）	14
4.3	事前事後アンケート調査	19
4.4	事前事後アンケート結果	21
4.5	まとめ	22
第5章	木材の SEM 観察のための低濃度および室温のイオン液体の 短時間前処理法	23
5.1	はじめに	23
5.2	現生木材及び木質文化財材の標本名	24
5.3	木材試料の調整	25
5.4	イオン液体を用いた木材の前処理法	25
5.5	イオン液体濃度による比較	26
5.6	各種木材の SEM 観察	28
5.7	木質文化財への適用	46
5.8	SEM 観察のための前処理と木材溶解のためのバイオマス適応との比較	50
5.9	まとめ	53

第6章	開発された滑走式切れ刃試験器に関する SEM による性能評価.....	54
6. 1	はじめに.....	54
6. 2	実験で使用したかな身について.....	55
6. 3	教育用滑走式刃先の切れ味試験器と実験条件.....	56
6. 4	SEM 観察のためのかな身刃先の試料調整.....	58
6. 5	刃先の切れ味の定量評価.....	59
6. 6	新品かな身刃先の SEM 観察.....	61
6. 7	劣化したかな身刃先の SEM 観察.....	61
6. 8	教員と学生が研磨したかな身刃先の SEM 画像.....	63
6. 9	まとめ.....	65
第7章	結言.....	65
参考文献	.....	67
謝辞	.....	70

## 目次

図 1	1-メチル-3-メチルイミダゾリウムメチルホスホネート	6
図 2	イオン液体で処理されたワカメ	7
図 3	前処理の手順	8
図 4	ろ過方法	9
図 5	試料台	9
図 6	イオン液体の塗布	10
図 7	アルテミア・サリナ(1wt%)	11
図 8	ミカズキモ(1wt%)	11
図 9	動物性プランクトンと植物性プランクトン	12
図 10	SEM 原理・構造	16
図 11	分解能の模式図	16
図 12	レンズの比較	17
図 13	真空の必要性	17
図 14	プランクトンの前処理の有/無の比較	18
図 15	前処理の様子	18
図 16	SEM 観察の様子	18
図 17	SEM 観察のための従来の前処理方法の一連手順	23
図 18	木材観察のためのイオン液体を用いた前処理手順	26
図 19	(a)イオン液体濃度 1wt% (ケヤキ木口面)	27
図 19	(b)イオン液体濃度 10wt% (ケヤキ木口面)	27
図 19	(c)イオン液体濃度 30wt% (ケヤキ木口面)	28
図 20	光学顕微鏡観察されたスギ( <i>Cryptomeria japonica</i> )の木口面	29
図 21	(a) SEM 観察されたスギ( <i>Cryptomeria japonica</i> ) 早材(Ew), 晩材(Lw) (木口面)	29
図 21	(b) SEM 観察されたスギ( <i>Cryptomeria japonica</i> ) 放射組織(R) (板目面)	30
図 21	(c) SEM 観察されたスギ( <i>Cryptomeria japonica</i> ) 放射組織(R)の拡大図 (板目面)	30
図 21	(d) SEM 観察されたスギ( <i>Cryptomeria japonica</i> ) 有縁壁孔(Bp) (柾目面)	31
図 21	(e) SEM 観察されたスギ( <i>Cryptomeria japonica</i> ) 有縁壁孔(Bp)の拡大図 (柾目面)	31
図 21	(f) SEM 観察されたスギ( <i>Cryptomeria japonica</i> ) スギ型壁孔(Tp) (柾目面)	32

図 22	分野壁孔の模式図.....	32
図 23	光学顕微鏡観察されたカラマツ( <i>Larix gmelinii</i> ) 早材部(Ew)と晩材部(Lw) (木口面).....	33
図 24	(a)SEM 観察されたカラマツ( <i>Larix gmelinii</i> ) 早材部(Ew)と晩材部(Lw) (木口面).....	34
図 24	(b)SEM 観察されたカラマツ( <i>Larix gmelinii</i> ) 放射組織(R) (板目面).....	34
図 24	(c)SEM 観察されたカラマツ( <i>Larix gmelinii</i> ) 有縁壁孔(Bp) (柾目目).....	35
図 25	光学顕微鏡観察されたヒノキ( <i>Chamaecyparis obtusa</i> ) 早材部(Ew)と晩材部(Lw) (木口面).....	36
図 26	(a)SEM 観察されたヒノキ( <i>Chamaecyparis obtusa</i> ) 早材部(Ew)と晩材部(Lw) (木口面).....	36
図 26	(b)SEM 観察されたヒノキ( <i>Chamaecyparis obtusa</i> ) 放射組織(R) (板目面).....	37
図 26	(c)SEM 観察されたヒノキ( <i>Chamaecyparis obtusa</i> ) 有縁壁孔(Bp) (柾目目).....	38
図 27	光学顕微鏡観察されたケヤキ( <i>Zelkova serrata</i> ) 大道管(V) (木口面).....	39
図 28	(a)SEM 観察されたケヤキ( <i>Zelkova serrata</i> ) 大道管(V) (木口面).....	40
図 28	(b)SEM 観察されたケヤキ( <i>Zelkova serrata</i> ) 単せん孔(Sp), らせん肥厚 (Th) (板目面).....	41
図 28	(c)SEM 観察されたケヤキ( <i>Zelkova serrata</i> ) 柔細胞ストランド(Ps) (柾目面).....	42
図 28	(d)SEM 観察されたケヤキ( <i>Zelkova serrata</i> ) 単せん孔(Sp), らせん肥厚 (Th) (柾目面).....	43
図 29	光学顕微鏡観察されたブナ( <i>Fagus crenata</i> )の木口面.....	44
図 30	(a)SEM 観察されたブナ( <i>Fagus crenata</i> )の木口面.....	45
図 30	(b)SEM 観察されたブナ( <i>Fagus crenata</i> )の板目面.....	45
図 30	(c)SEM 観察されたブナ( <i>Fagus crenata</i> )の柾目面.....	46
図 31	(a)SEM 観察されたヒノキ( <i>Chamaecyparis obtusa</i> ) 早材(Ew), 晩材(Lw) (木口面) .....	47
図 31	(b)SEM 観察されたヒノキ( <i>Chamaecyparis obtusa</i> ) 放射組織(R) (板目面).....	48

図 31	(c)SEM 観察されたヒノキ( <i>Chamaecyparis obtusa</i> ) 有縁壁孔(Bp) (柁目面).....	49
図 31	(d)SEM 観察されたヒノキ( <i>Chamaecyparis obtusa</i> ) ヒノキ型壁孔(Cp) (柁目面).....	50
図 32	処理条件の比較図.....	52
図 33	晩材部・早材部の模式図.....	53
図 34	かんな身の時系列.....	56
図 35	教育用滑走式刃先切れ味試験器	
	(a) 供試材固定器.....	57
	(b) 刃物固定器.....	57
	(c)滑走の傾斜角の設定.....	57
	(d)滑走前.....	57
図 36	刃先の SEM 観察.....	58
図 37	進入痕の形態	
	Case 0 新品のかんな身刃先(大学教員による再研磨有).....	60
	Case 1 新品のかんな身刃先(再研磨無).....	60
	Case 2 劣化したかんな身刃先(研磨無).....	60
	Case 3 劣化したかんな身刃先(大学教員による研磨有).....	60
	Case 4 劣化したかんな身刃先(学生による研磨有).....	60
図 38	進入痕の深さの測定結果.....	60
図 39	新品かんな身刃先の再研磨無／有での比較	
	(a) Case 1 (再研磨無).....	61
	(b) Case 0 (再研磨有).....	62
図 40	劣化したかんな身刃先の研磨無／有での比較	
	(a) Case 2 (研磨無).....	62
	(b) Case 3 (研磨有).....	63
図 41	研磨後のかんな身刃先の比較	
	(a) 大学教員による研磨 (Case 2).....	64
	(b) 学生による研磨 (Case 4).....	64

## 表目次

表 1	プランクトン観察のための最適化条件.....	11
表 2	授業展開.....	15
表 3	事前アンケート項目.....	19
表 4	事後アンケート項目.....	20
表 5	事前・事後アンケート結果.....	22
表 6	標本名.....	24
表 7	木材溶解のための処理条件.....	51
表 8	処理条件の比較.....	51
表 9	実験で使ったかな身.....	55

## 第1章 序論

### 1.1 研究背景

今日、走査型電子顕微鏡(SEM)は、生産技術や医学・生物学の分野の研究において欠くことのできない機器として広く普及している。例えば、木材切削に用いられる、様々な刃の工具摩耗性に関する刃先の摩耗状態をSEMによって観察した研究において様々な機構が捉えられており<sup>1)</sup>、医学や生物学では、形態学的・分類学的研究のための赤血球、肺の上皮細胞、木材の樹種同定や水生微生物(プランクトン)の渦鞭毛藻などの歴史的考古学的研究や形態学的・分類学的研究のための微細構造の観察が行われている。さらに教育目的として生物の多様性を学習する教材としての実験・観察の授業など、SEMは多岐にわたって用いられている<sup>2)5)</sup>。しかしながら、学校現場では教師や生徒が実際にSEMを扱うことは少なく、民間企業や国立研究所による出前授業の事例がほとんどである<sup>6)7)</sup>。そのため、授業等で生徒自らが最先端技術の開発環境で用いられているSEM観察の面白さや難しさに触れる機会が少ないのが現状である。

近年、文部科学省による平成28年版科学技術白書にも述べているように、ノーベル賞受賞を生み出した背景の受賞者の多くが、学校生活や先達の日本人受賞者からの影響により、小さいころから科学に興味を持っていることが挙げられている<sup>8)</sup>。そのため、創造性を育む教育や理数学習の機会等を通じて次代を担う人材の能力・才能の伸長を促すとともに、理数好きの児童生徒の拡大を図ることが重要であるとしている。さらに、平成28年度からの第5期科学技術基本計画でも、科学技術イノベーションの基盤的な力の強化において、人材力の強化、知の基盤の強化が謳われている。例えば、教育学的な見地からも技術・情報教育における学びの構成の一つとして、技術に関する科学的な理解が挙げられる。そのため理科と技術の教科横断的な学習が望ましいことが報告されている<sup>8)11)</sup>。これらの学習において、科学的な見方や考え方の育成を図る上で観察や実験は、極めて重要な活動である。実験によって得られた結果からグラフなどに整理して考察することで、意図的で明確な目的を持った活動となり、意味や価値を持つものとなる。こうした実験を通して、興味・関心を向上させることが授業で求められている。そこで、観察実験に関する基本的な内容が学べ、試料作製から観察までの一連の手順がSEMを用いて学べる。

教育への適応に関しては、いくつかの事例も挙げられている。例えば、高校理科や中学校技術などの教科書に生物細胞のSEM画像が掲載されており、一例として、SEM画像を用いることで、木が成長してきたことを一つの年輪を生徒にイメージさせるために有効であることがウェブ教材で挙げられている<sup>13)</sup>。さらに、プランクトンを試料とした適用例もあり、話題となっている先端自然科学の理解を深めることを目的としている<sup>14)</sup>。しかしながら、生物試料をSEMで観察する際に前処理を行うための特別な装置や薬品が必要となり、大変時間や手間が掛かってしまう。そのため、生徒を対象とした実践授業では、生物の前処理から観察までの過程を授業で行うことはなく、予め前処理した生



物試料を用意し、生物を見るだけの受動的な授業になってしまう。

最近、新しい前処理方法として、イオン液体が生体試料の SEM 観察を容易にすることが報告されている<sup>12),15),16)</sup>。これらのイオン液体を用いた生物試料の SEM 観察の簡便な前処理方法として、固定又は金スパッタリングを行わない新しい前処理方法として報告されている<sup>12)</sup>。この方法を用いた前処理によって、生体試料の鮮明な SEM 画像が得られている。さらに、イオン液体を用いることで簡便に前処理が行えるため時間が短縮できる。そのため、教育利用において、単に生物の生態を観察するだけでなく、前処理から観察までの過程を授業内で行うことが可能になり、必然的に SEM の原理・構造が体系的に学べる。

中学校技術の材料加工の実習で木箱などの製作を行う際に木材が扱われている。木材の木質細胞の SEM 観察は、樹種同定において重要であり、考古材などの出土木材の微細構造を観察する上で欠かすことのできない技術である。本来の現生材は、保存するために水に浸けられており、急激な乾燥による落ち込みを防ぐために一度試料を乾燥させてから、真空蒸着法によって各木材の 3 断面(木口面や板目面、柃目面)の表面を金属でコーティングし、試料表面に薄膜を形成する必要がある。さらに、考古学的文化財の出土木材を扱う際には、数百～数千もの莫大な数量の試料を前処理する場合があります、非常に手間と時間が要するため、木材分野においての SEM 観察のための前処理手順は迅速かつ容易であることが望まれる。そのため、イオン液体を使うことで、容易かつ迅速に観察されることが期待はされるが、一方で、イオン液体は、セルロースなどの植物繊維を効果的に溶解させるために開発されたので、その木材などへの適用は、バイオマス資源の変換技術にほとんど制限されていた<sup>18)・19)</sup>。さらに、イオン液体を用いた処理が木材の微細構造の破壊や変形を引き起こすことが報告されていた<sup>20),21)</sup>。

また、中学校技術又は工業高等学校の学習指導要領では、加工技術が設けられている<sup>23)</sup>。加工技術では、工具を損傷したり、材料や製品を無駄にしたり、怪我などの危険が伴うので、用途に応じた工具の原理や構造を学び、扱い方を学ぶ。その加工技術の工具の一つにかんながあり、木材の表面を削って平滑にする役割がある。かんなを構成する部品の中に、木材の切削に直接関わる刃先を有するかんな身がある。しかし、どのように鋭利なかんな身刃先でも、木材の切削を続ければ次第に刃先が摩耗して、切れ味が低下する<sup>24)</sup>。そのため、木材によるものづくり教育の実践において、工具や道具の維持管理等は不可欠である。そのために、替え刃式工具、刃先研磨支援のための治具や試験方法が開発されてきた<sup>25)・29)</sup>が、教師がかんな身刃先の切れ味を評価できなければ、刃物交換の時期を判定し、効果的かつ安全にかんな削りを行うことが困難である。また、木材切削工具の刃先の摩耗機構について様々な研究が行われてきた<sup>1),30),31)</sup>。SEM を用いた表面の微細構造の観察により、これらの諸要因による摩耗の形態を系統的に分類できることが示されている。

これまでの刃物切れ味試験器の研究では、例えば糸に張力を与えておき、刃先を

徐々に押し上げ、糸が切れたときの刃物の移動量から刃物の切れ味を評価する方式が開発されている<sup>27)</sup>。そのほかにカミソリ等刃物を含む各種刃物の切れ味試験方法が開発されているが、寸法の微少な糸など点接触到に近い刃先の切れ味を評価する 경우가多く、これまでの研究では任意の刃先線長さあたりの刃先の切れ味を評価する方式の開発例が少ない。また、市販の切れ味試験器は高価であり、さらに、刃先を操作するなど安全性の観点から、学校教育における学習場面での利用を念頭において開発されていないので、授業実践への導入が難しいことが課題であった。中学校技術又は工業高等学校の教師が安全かつ簡便にかんな身刃先の切れ味を評価できるために、尾崎・花本によって実習用の廃材を用いた教育用滑走式切れ味試験器が開発された<sup>32)</sup>。後述するように、この試験器は65°の斜面上に沿って割り箸を滑走させて、刃先に衝突させる。その際に、割り箸に刃先の進入痕が残るが、その進入痕の深さを測定することで刃先の切れ味を評価する。進入痕の深さを測定する際に、LED光源を装備したライトスケールルーペとデジタルカメラを併用することで、簡便な測定が行える。さらに、SEMによる刃先の表面状態の観察により、刃先の摩耗状態も評価できる<sup>33)</sup>。

## 1.2 研究目的

本研究は SEM の学校教育への新たな適用可能性を図るために、以下の項目について検討した。

### 1) SEM の教育利用に関して

①生物試料の観察について、理科の教科書で頻繁に取り上げられているプランクトンを試料として、イオン液体を用いた前処理の方法について、溶媒濃度などの最適なパラメータ条件を検討する。

②上記①で得られた成果を基に、中学生を対象に、イオン液体を用いた前処理によるプランクトンの SEM 観察を内容とする授業実践を行い、学校教育への適用可能性を検証する。

③中学校技術や高等学校工業では材料加工の単元があり、木材の細胞構造の観察に SEM が用いられる。木材に対してもプランクトンの場合と同様に、イオン液体を用いた方法により、前処理の簡便化や時間短縮が図れると期待できる。しかし一方で、イオン液体は、セルロースなどの植物繊維を効果的に溶解させるために開発されたので、木材などへの適用は、バイオマス原料の糖化技術にほとんど限定されていた<sup>18),19),20),21)</sup>。さらに、イオン液体を用いた処理が木材の微細構造の破壊や変形を引き起こすことが報告されていた<sup>20),22)</sup>。そのため、木材の SEM 観察に向けたイオン液体の適用が難しいと考えられる。そこで、本研究では、イオン液体を用いた前処理方法が木材に対して適用可能であるか検討する。

### 2) 切削工具刃先の摩耗の観察について

①尾崎・花本が開発した滑走式刃先切れ味試験器<sup>32)</sup>を対象に、SEM 観察による刃先の表面観察を行い、刃先の摩耗状態を評価する。その際に、試験器を用いた進入痕の深さからの切れ味評価との比較・検討を行うことで、同試験器の性能評価も行う。

### 1.3 論文の構成

第1章では、主に研究の背景と目的について述べ、本論文の構成を示している。

第2章では、イオン液体についての特徴・応用例について述べる。内容として、イオン液体が揮発性や難燃性、導電性を有していることや、医学・生物学分野でワカメやヒトの培養細胞などのSEM観察が行われていることに関して述べる。

第3章では、先行研究での前処理の方法と手順や、基材や溶媒がSEM像に与える影響など最適化のパラメータについて述べる。

第4章では、イオン液体を用いた前処理によるSEM観察の学校教育への適用について述べる。内容について、第3章で最適化されたイオン液体を用いた簡便な前処理方法によって、生物試料の前処理から観察までの過程を実習で行う。それにより、前処理の必要性を通してSEMの原理・構造が体系的に学べることについて述べる。

第5章では、木材のSEM観察のための希釈濃度、温度、処理時間の条件と細胞の微細構造のSEM画像からの適用可能性について述べる。経年劣化した木質文化材までの幅広い種類と年代の木材のSEM観察について述べる。

第6章では、技術・工業教育の実習分野において扱われる工具をSEMの計測技術を活かして詳細な観察を行い、定量評価の結果と比較・検討する。

第7章では、結言として各章で得られた結果を総括した結論について述べる。

## 第2章 イオン液体とは (12),15),34),35)

### 2.1 イオン液体の特徴

イオン液体は、常温で液体状態の塩である。蒸気圧が限りなく0に近く、高温・真空下でも蒸発することが無い。それゆえ、揮発しない溶媒ならびに電解液として有機合成や電気化学反応のための溶媒としての研究が盛んに行われている大阪大学の桑畑研究グループは (18),19), 種々の電気化学反応にイオン液体を利用する研究を行ってきた。その研究を推進する中で、イオン液体を電子顕微鏡で直接的に観察できることを発見した。この現象を利用するとイオン液体中での電気化学反応をその場で電子顕微鏡観察することが可能となる。代表的な塩である NaCl の融点は、801℃であり、それ以上の温度で液体になる。それに対して、常温で液体の塩がイオン液体である。溶媒が存在せず、イオンだけで構成されている液体ということから、イオン液体と呼ばれている。そして、常温で液体のものとして、水、有機溶媒に続く「第3の液体」としての地位を得て、この十数年の間に数多くのイオン液体が合成され、数年前から国内外の試薬会社も競って販売し始めている。

イオン液体の主な特徴として以下が挙げられる。

1)揮発性が極めて低いこと、2)難燃性であること、3)イオン伝導性を有しており、親水性のもの、疎水性のもの、さらには水にも有機溶媒にも混ざらないものも合成されている。イオン液体の一例として 1-メチル-3-メチルイミダゾリウム メチルホスホネートの外観と化学式を図1に示す。

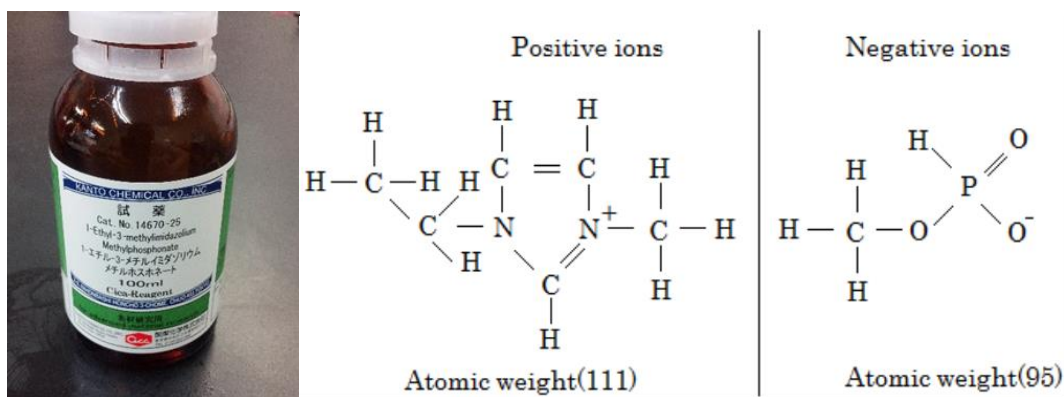


図1 1-メチル-3-メチルイミダゾリウム メチルホスホネート

## 2.2 イオン液体の応用例

近年、医学や生物分野でイオン液体を用いた前処理によって様々な試料の SEM 観察が幅広く行われている。一例として、ワカメ(図 2)が報告されており、乾燥状態と濡れた状態で明らかに形状が異なることが示されている<sup>15),35),36)</sup>。また、昆虫や花粉、ネズミの繊維芽細胞の観察例も報告されている<sup>12)</sup>。他の分野へのイオン液体の適用では、イオン液体を用いたバイオマスの処理は、リグニン及びセルロースの溶解を促進し、有望な処理技術であることが示されている<sup>37)</sup>。

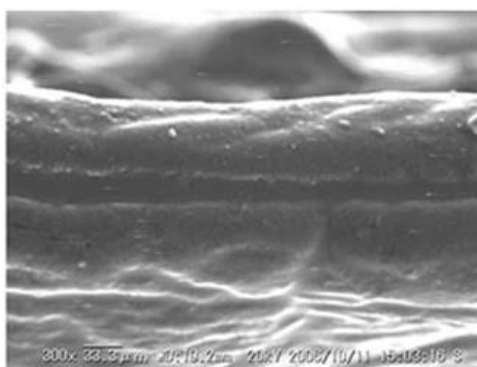


図 2 イオン液体で処理されたワカメ

### 第3章 先行研究でのプランクトン観察のための最適化条件

#### 3.1 はじめに

山下ら<sup>38)</sup>の研究では、従来の凍結乾燥法に比べて簡単に行える前処理法としてイオン液体を用いた方法に着目し、その方法がプランクトンのSEM観察に適用可能な条件について検討した。後で詳細に述べるように、この前処理方法は、イオン液体を数回程度、生物試料へ滴下するだけであり、生物試料の固定や凍結乾燥、金属蒸着の操作手順を必要としない。

プランクトンのSEM観察に向けた山下ら<sup>38)</sup>の研究では、イオン液体を用いて前処理を行う際、試料に最適なイオン液体の濃度が存在することを明らかにした。しかし、より手順の簡単化や時間短縮を図る上で、イオン液体の溶媒や基材による違いなどの条件の最適化が富田<sup>39)</sup>によって明らかとなった。この最適化において、SEM観察用試料のプランクトンは市販品を用いた。先行研究では、最適化した前処理の条件を用いて、SEM観察を実行した。

#### 3.2 イオン液体を用いた前処理方法

水生微生物をSEMで観察するために、Tsudaらの方法<sup>12)</sup>を参照してイオン液体を用いた前処理方法を適用した。一連の流れを図3に示す。

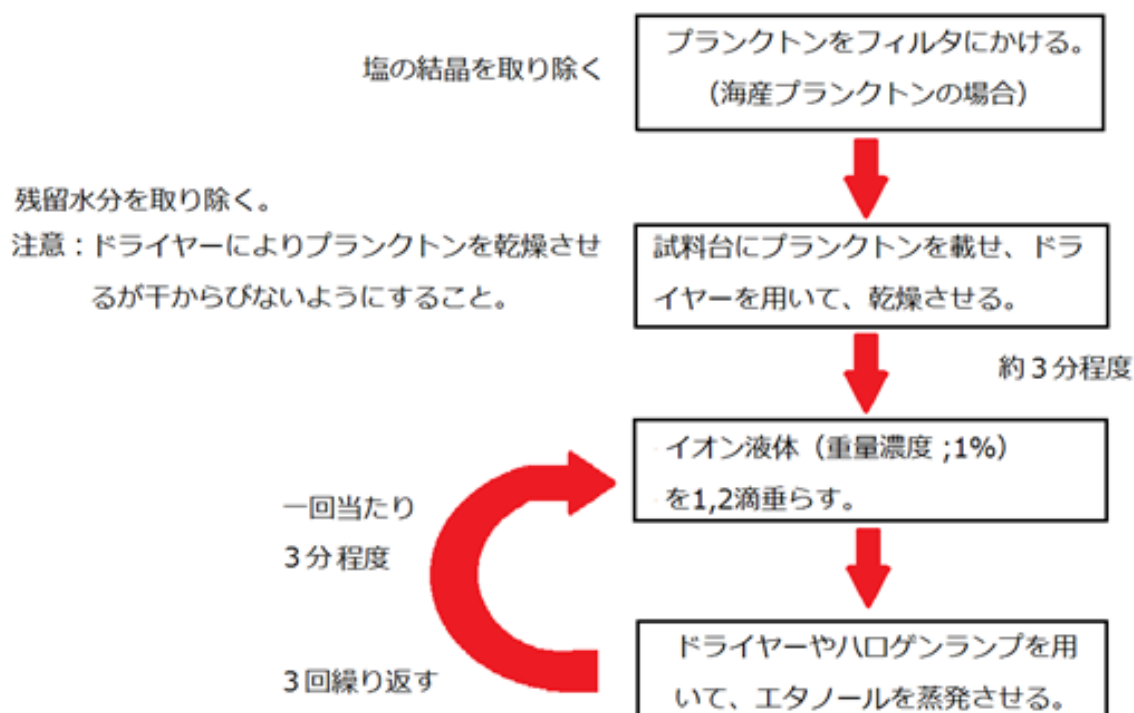


図3 前処理の手順

今回の実験では、海産のプランクトンであるアルテミア・サリーナの観察を行った。このアルテミア・サリーナは、海産のプランクトンであるため、表面に海水が付着している。表面に残留した塩水は、真空中では塩の結晶となり SEM で観察の際に障害となる。そこで、プランクトンに付着している塩水を除去する必要がある。その方法としてコーヒーのフィルタにプランクトンの入っている塩水をスポイトによって流し込み、ろ過する。これは、塩の結晶よりプランクトンのほうが大きいためフィルタには、プランクトンだけが残る(図 4)。さらに、そのコーヒーフィルタに真水を入れてプランクトンに付着している塩の結晶を取り除く。塩の結晶を除去したアルテミア・サリーナを、スポイトを用いて一辺が約 1cm の試料台の上に載せる様子を図 5 に示す。自然乾燥を約 30 分間して不要な水分を取り除いた後、イオン液体を塗布する(図 6)。

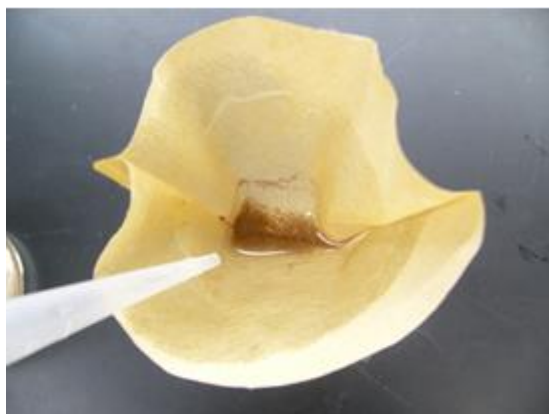


図 4 ろ過方法

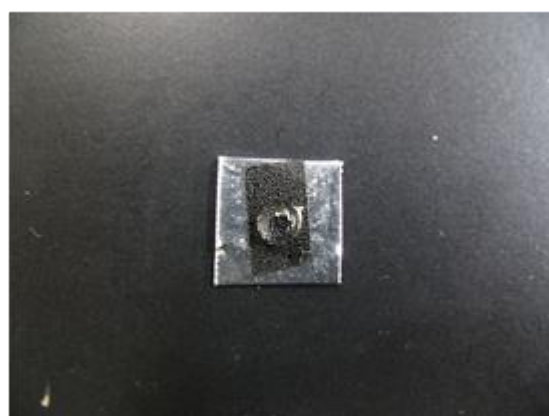


図 5 試料台





図6 イオン液体の塗布

この作業によって、プランクトン体内の水分をイオン液体に置換し、SEM装置内でのプランクトンの収縮による形状変化やチャージアップを抑制する。イオン液体は水又はエタノールを溶媒として、条件に応じて希釈した。また、注意点として、試料台の上に乗っているプランクトンが乾燥する前にイオン液体を塗布する。一度乾燥してしまうとプランクトンの形状が変形するからである。

### 3.3 最適化のパラメータについて

イオン液体として1-エチル-3-メチルイミダゾリウム メチルホスホネート(関東化学(株)社製)を用いた。また、SEMはJCM-5000(日本電子(株)社製)を用いて、動物プランクトンとしてアルテミア・サリーナ、また植物プランクトンとしてミカヅキモのSEM観察を行った(図7と8に示す)。動物プランクトン、植物プランクトンは共に市販のプランクトンを用いた。表1にプランクトン観察のための最適化条件を示す。

実験の結果から以下のことが明らかになっている。

- ① 置換時間は約3分でも試料の顕著な収縮・変形は見られない。
- ② 置換回数は、変形やチャージアップ(帯電)を抑制するために3回は必要であることが分かった。
- ③ 濃度×置換回数を一定にして、イオン液体の滴下量を等しくしたが、置換されるイオン液体の液滴量は等しくないことが明らかになった。

表1 プラנקトン観察のための最適化条件

実験条件	動物性プラנקトン	植物性プラנקトン
①時間	3分程度	3分程度
②置換回数	3回	3回
③イオン液体濃度	1 wt%	0.5 wt%
② 溶媒	エタノール	エタノール

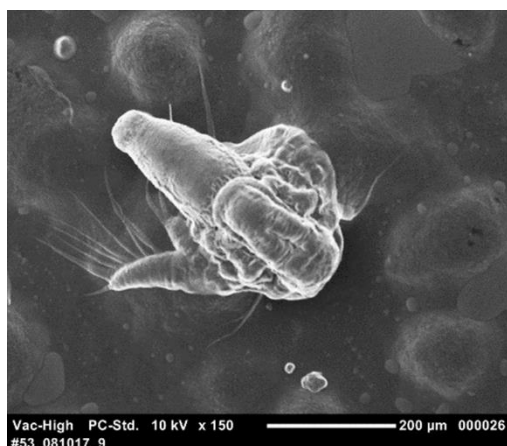


図7 アルテミア・サリナ(1 wt%)

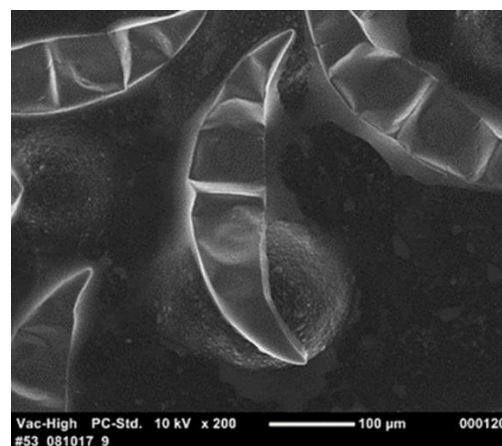


図8 ミカヅキモ(0.5 wt%)

### 3.4 動物性プラנקトンと植物性プラנקトンの違い

アルテミア・サリナとミジンコでは最適なイオン液体濃度は1%, ミカヅキモでは0.5%であった。このようにプラנקトンによってイオン液体の最適濃度が異なる。この理由の1つとして、細胞壁の有無が考えられる(図9に示す)。すなわち、細胞壁を持たない動物プラנקトンであるの対し、後者は細胞壁を持つ植物プラנקトンであり、細胞レベルでの表面構造が異なる。植物の細胞壁は、セルロース等の高分子糖鎖とリグニンから構成された“硬い”構造であり、一般的に、細胞内の膨圧により、一定の形態が維持されている。

また、動物性プラנקトンの細胞膜と異なり能動的な輸送機能を持たない。そのため、ミカヅキモでは、細胞内に生じた膨圧によってイオン液体が浸透しにくくなると考えられる。その結果ミカヅキモに対して、1%のイオン液体濃度を滴下するとイオン液体が細胞内へ浸透せず、表面に過度のイオン液体が残存し、SEM観察には濃くて適さないと考えられる。一方、アルテミア・サリナやミジンコのような動物プラנקトンでの細胞膜は、イオンなどの低分子を透過・輸送させる機能を持つため、イオン液体が

細胞内へ容易に浸透する。よって植物プランクトンよりも高いイオン液体濃度が最適であると考えられる。

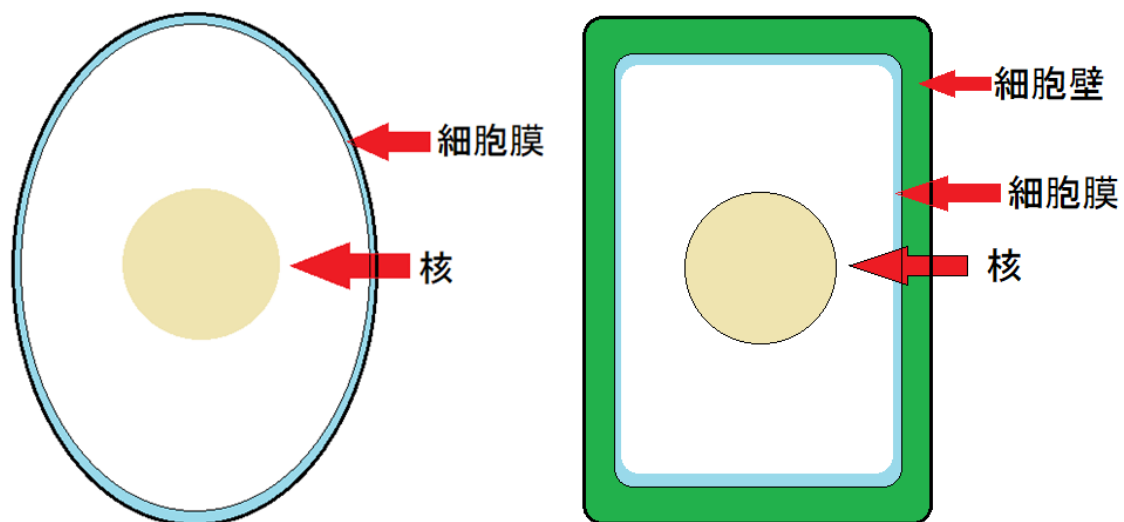


図9 動物性プランクトンと植物性プランクトンの構造

### 3.5 まとめ

プランクトンの SEM 観察のためのイオン液体を用いた前処理方法について、表 1 に示すように、時間、置換回数、濃度、溶媒を検討し最適化した。その結果、以下の知見が得られた。

- 1)置換時間は約 3 分でも試料の顕著な収縮・変形は起こらない。
- 2)置換回数は、変形やチャージアップ(帯電)を抑制するために 3 回は必要である。
- 3)濃度×置換回数を一定にして、イオン液体の滴下量を等しくしたが、置換されるイオン液体の液滴量は等しくないことが示された。
- 4)アルテミア・サリーナとミジンコでは最適なイオン液体濃度は 1%，ミカヅキモでは 0.5%である。

## 4 章イオン液体を用いた前処理による SEM 観察のための学校教育への適用

### 4.1 はじめに

SEM 観察の教育への適用に関して、いくつかの事例が挙げられている<sup>5),13),14)</sup>。一例として、技術教育などの授業の一環として、SEM 画像を用いると、木が生きていることを一つの年輪を生徒にイメージさせるために有効であることがウェブ教材で挙げられている<sup>13)</sup>。さらに、プランクトンを試料とした適応例もあり、話題となっている先端自然科学の理解を深めることを目的としていることが報告されている<sup>14)</sup>。しかしながら、生物試料を SEM で観察する際に前処理を行うための特別な装置や薬品が必要となり、大変時間や手間を要する。そのため、生徒を対象とした実践授業では、生物試料の前処理から観察までの過程を授業で行うことはなく、予め前処理した生物試料を用意し、生徒は生物を見るだけの受動的な授業になってしまう。

本研究では、SEM を用いて中学生を対象にした先端計測科学技術の授業実践を行った。授業内容は、座学と実習の二つに分けて行った。座学では SEM の原理や構造、応用例についての説明をし、光学顕微鏡との比較も行った。実習では、イオン液体を用いた試料の前処理や SEM の操作を生徒自ら行い、プランクトンの観察を行った。授業の前後に分解能や真空等の SEM の構造や原理に関するアンケート調査結果を行い、比較した。アンケート調査の結果から、生徒の興味・関心・理解が向上していることが示されており、SEM を題材とした授業は、中学生向けの科学技術教育に適用可能なことを確認した。

## 4.2 中学校における実践授業

### (1)本時の目標

電子顕微鏡の構造や活用に興味を持ち、構造から光学顕微鏡との違いを理解できる。

### (2)授業展開

2016年12月14日徳島市内F中学校1,2,3年生技術部23名を対象にSEMを題材とした100分間の授業実践を行った(座学40分間,実習60分間)。座学では,SEMの原理,構造(図10に示す)や特性・応用例について授業を行った。具体的には,①分解能,②レンズ,③真空の説明を行った。また,実習に関しては,④に示す。

- ① 分解能とは,2つの点を認識できる最短の距離である(図11に示す)。
- ② レンズでは,図12に示すように対物レンズと電子レンズを例に挙げた。対物レンズにより平行に入射した光は,一点(焦点)に収束した後,発散することで像が拡大される。光学顕微鏡では,この対物レンズの機能を使って像を拡大する。一方,光に代えて電子で像を拡大する電子顕微鏡は,電子レンズを使う。電子レンズは,コイルに電流を流して発生させる磁場で電子を収束させる。
- ③ 真空については,大気中には目に見えない様々なガス分子が存在しており,このような状態では電子線は分子と衝突してしまいまっすぐ飛ぶことができない。そのため,電子線の発生源である電子銃から安定に電子線を放出させ,放出された電子の直進性を良くするためには,真空状態が必要になる(図13に示す)。

さらに,帯電(チャージアップ現象)についての説明を行った。生物などは一般的に絶縁物(電気を通さない物質)であり,SEMで観察する際にチャージアップ現象が起こる。また,生物の軟組織は真空中で収縮し形状が変化するので,正確な形態観察や体長計測ができない,それゆえに前処理を行う必要がある。プランクトンの一種であるアルテミア・サリーナのSEM像について,前処理の有/無での比較を図15(a),(b)に示す。

- ④ 実習では,プランクトン試料の前処理(図15)とSEMを操作してプランクトンを観察した。その際に,まず前処理をしていないプランクトンの観察をした。次に,生徒が自ら前処理したプランクの観察を行った(図16)。

表2 授業展開（実習と座学）

時間(分)	学習活動	指導と留意点	評価
5	○座学 事前アンケート		
30	○実習 前処理(イオン液体) ・試料を乾燥	・ドライヤーを用いて、プランクトンを乾燥させる際に形状が変形しないように注意する必要がある	電子顕微鏡の用途について関心を持っているか
30	○座学 電子顕微(SEM)の原理について ・構造 ・真空 ・レンズ ・応用例	・電子顕微鏡について理解しているか	・構造原理について理解できているか
30	○実習 電子顕微鏡での観察 ・チャージアップ現象 ・蒸着の必要性	・SEM を操作して観察ができること  ・前処理の必要性を学ぶ	・SEM を操作して画像が揺れているか  ・前処理について理解できているか
5	○座学 ・事後アンケート		

## SEMの原理図

SEMは、凸レンズで光を一点に収束させる光学顕微鏡のように、電子レンズを用いて、電子線を微小径に収束し、試料上に照射する。

この電子ビームを試料上に照射させ、試料から跳ね返ってくる二次電子像（主に試料表面の微細な凹凸像）や、反射電子像（試料の構成する原子や結晶方位）を見ることで画像を得る方式の顕微鏡である

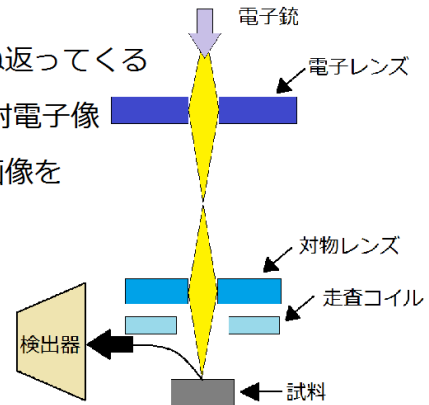


図 10 SEM 原理・構造



図 11 分解能の模式図

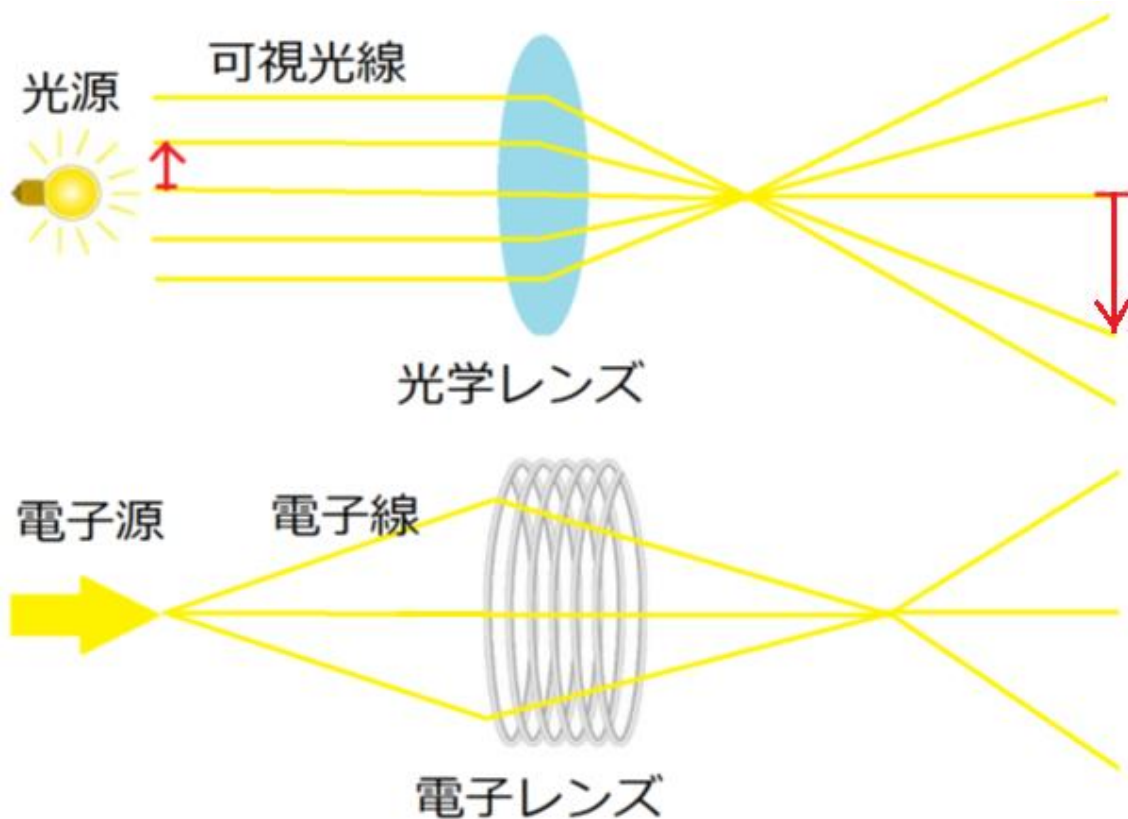


図 12 レンズの比較

## 真空ポンプの必要性について

- ・大気中には、見えない様々なガス分子が存在します
- ・このような状態では電子線は、分子に衝突してしまい真っすぐ飛ぶことができません
- ・そのため、放出された電子の直進性を良くするために真空状態が必要

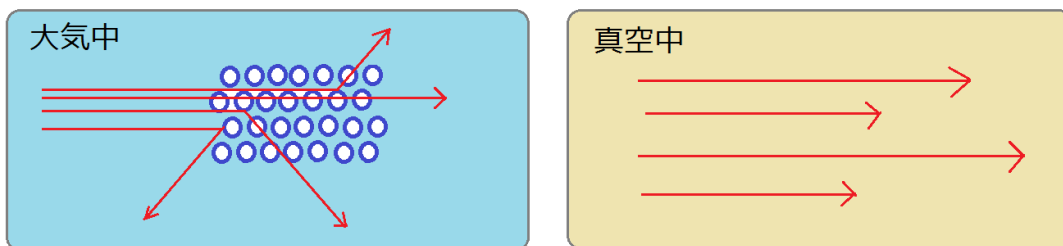
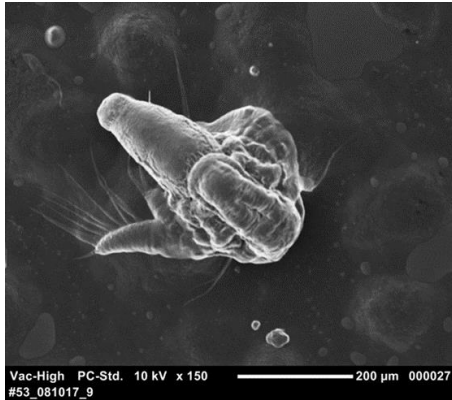
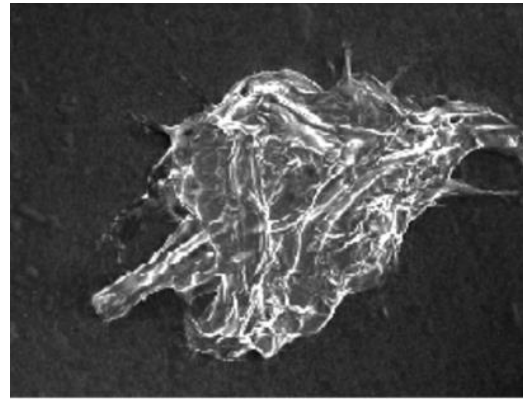


図 13 真空の必要性





(a)前処理有り



(b)前処理なし

図 14 プランクトンの前処理の有/無の比較

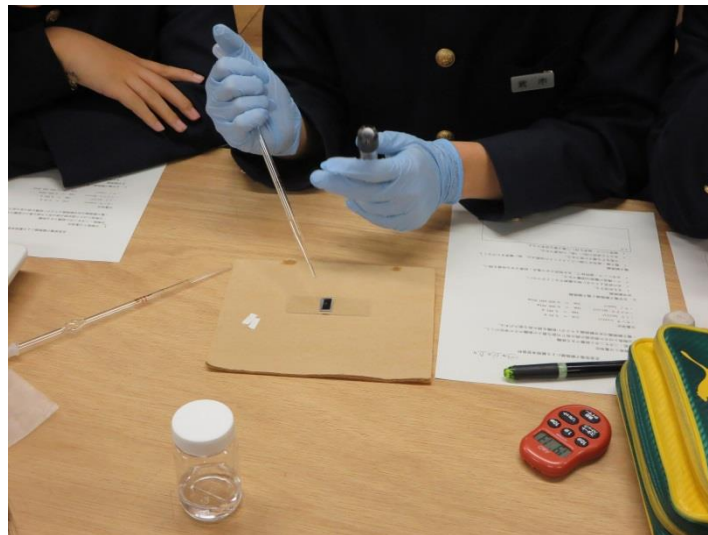


図 15 前処理の様子



図 16 SEM 観察の様子

### 4.3 事前事後アンケート調査

今回、学習者がどれだけ本授業について理解をしたか を確かめるために事前事後アンケートで比較を行い、学習効果を検証した。

#### ・事前アンケート調査

授業実施前に生徒達の電子顕微鏡に関する知識のアンケート調査を行った。アンケートでは、問 1 から問 5 までの問題を用意した。問 1 から問 4 までの問題は、選択式、問 5 については、記述式とした。事前アンケートの質問項目を表 3 に示す。

表 3 事前アンケート項目

電子顕微鏡授業事前アンケート
Q.1: 次のうち電子顕微鏡について自分に当てはまるものをすべて選びなさい  ① 電子顕微鏡を実際に操作したことがある ② 電子顕微鏡の撮影した画像を見たことがある ③ 電子顕微鏡という言葉聞いたことがある ④ 知らない
Q.2: 次のうち電子顕微鏡, 光学顕微鏡それぞれで見えると思うものをすべて選びなさい。  (電子顕微鏡) ① ウイルス ② DNA ③ 乳酸菌 ④ 髪の毛 ⑤ ミジンコ (光学顕微鏡) ② ウイルス ② DNA ③ 乳酸菌 ④ 髪の毛 ⑤ ミジンコ
Q.3: 電子顕微鏡で試料を真空状態で観察する理由を知っていますか?  ① 知らない ② 知っている(理由: )
Q.4: 電子顕微鏡で生物を観察する場合, 鮮明に観察できると思いますか?  ① できる ② できない(理由: )
Q.5: 自分の知っているレンズを使っているものをすべて挙げてください。

・事後アンケート調査

100 分間の授業実施後に事後調査アンケートを実施した。事後アンケートでは、事前と同様に問 1 から問 5 までの問題を用意した。問 1 と問 2 は、選択式で行い、問 3 から問 5 記述式で行い調査した。事後アンケートの質問項目を表 4 に示す。

表 4 事後アンケート項目

電子顕微鏡授業事後アンケート
Q.1:電子顕微鏡について関心や興味を持ってましたか？ ① 非常に興味・関心を持った ② 興味・関心を持った ③ 興味・関心をあまり持てなかった ④興味・関心を持てなかった
Q.2:次のうち電子顕微鏡，光学顕微鏡それぞれで見えると思うものをすべて選びなさい。 (電子顕微鏡) ③ ウイルス ②DNA ③乳酸菌 ④髪の毛 ⑤ミジンコ (光学顕微鏡) ③ ウイルス ②DNA ③乳酸菌 ④髪の毛 ⑤ミジンコ
Q.3:今日学習した電子顕微鏡で試料を真空状態で観察する理由を説明してください。 (理由: )
Q.4: 電子顕微鏡で生物を観察する場合，鮮明に観察できない理由を説明してください。 (理由: )
Q.5: 自分の知っているレンズを使っているものをすべて挙げてください。

#### 4.4 事前事後アンケート結果

事前アンケートの結果では、ほとんどの生徒は問 1 の回答で②、③と答えており、「SEM 画像を見たことがある」や「SEM を聞いたことがある」の回答が 95.7%を占めていた(表 5 に示す)。実際に SEM を使用したことがある生徒は 1 人だけだった。ほとんどの生徒が電子顕微鏡を使うのが初めてだということが分かった。そのため事前アンケートの問 2 の「電子顕微鏡、光学顕微鏡それぞれで見えると思うものを全て選びなさい」という問いに対しての全体の正解率が 22.6%であり、電子顕微鏡と光学顕微鏡の分解能の違いについて理解できていないことが分かる。それに対して、事後アンケートの結果では、正解率は 63.5%まで増加し、過半数の生徒が分解能の違いについて理解した(表 6 に示す)。事前アンケートの問 3 の電子顕微鏡で試料を真空状態で観察する理由を知っていますか?の問いに対して答えた生徒は 8.7%しかいなかった。しかし、事後アンケートの問 3 の質問に対して、「真空でないと電子が分子に邪魔されて真っすぐ進まない」など、全員が真空である理由について正確に回答しており、理解している様子が分かる。問 4 の電子顕微鏡で生物を観察できますか?という問いに対しては、「観察できる」と全員の生徒が答えたが、その観察できる理由については、30.4%の生徒しか述べておらず、その回答は、「なんとなく」や「何でも見れそうだから」と漠然としていた。しかし、事後アンケートでは、全員の生徒がその理由について回答していた。65.2%の生徒が生物は、「電気を通しにくいから」と答えており、SEM での絶縁体試料の観察が難しいことに気がついていた。また、30.4%の生徒は、「水がなくなるから」や「蒸発するから」という回答をしていた。これは、真空中では気圧が下がるため、沸点が下がることを理解していることが分かる。問 5 の自分の知っているレンズを使っているものをすべて挙げてください、という問いに対して事前アンケートでは、わずかに 4.35%の生徒が電子顕微鏡と回答した。対して事後アンケートでは、電子顕微鏡に用いられる電子レンズや磁界レンズという具体的な用語が挙げられており、電子顕微鏡にもレンズが使われていることを理解していると言える。さらに事後アンケートの問 1 の「電子顕微鏡について興味を持ってましたか」という回答に対しては、①非常に興味・関心を持ったが 60.9%を、また②興味・関心を持ったが残りの 39.1%を占めていた。事前事後のアンケート調査の結果からも実践授業では、生徒の理解度が向上しただけでなく高い興味・関心が得られたことが明らかとなった。

表5 事前事後のアンケート結果

事前のアンケート結果	
問1	①4.35%(1人)②43.5%(10人)③52.2%(12人)④0%(0人)(度数%)
問2	22.6%(5人) 全体の正答率 (度数%)
問3	8.7%(2人) 全体の正答率 (度数%)
問4	0%(0人) 全体の正答率 (度数%)
事後のアンケート結果	
問1	①60.9%(14人)②39.1%(9人)③0%(0人)④0%(0人)(度数%)
問2	63.5%(14人) 全体の正答率 (度数%)
問3	100%(23人) 全体の正答率 (度数%)
問4	95.6%(22人) 全体の正答率 (度数%)

#### 4.5 まとめ

本実践では、学校では、なかなか触れることができない機器を自らの手で操作し、自ら試料を作製し観察ができた。SEMの原理や構造・観察方法など体験的に学習させる実験授業を実施した。本実践で得られた知見を下記に示す。①SEMに関する興味・関心を得た。②分解能、真空、電子レンズといったSEMの構造や原理について本授業を通して理解ができた。③イオン液体を用いた前処理やSEMの操作を中学生が行えた。以上のことから、SEMを題材とする最先端科学技術を用いた実践授業が可能であることが示された。今後の課題として、このSEMで観察したプランクトンの種類を増やし、生徒児童から観察したいのを提起させる。さらに、SEMでの観察時には、試料内を真空引きするため少し時間が掛かってしまうため、決められた時間内で観察実験を行うのは、少々困難である。今後、前処理や短授業を組み立てて行く際に時間短縮の工夫が必要になる。また、新たに観察の可能性を広げるために、他の種類のプランクトンの前処理・観察を行う。例えば、近年ミドリムシを飼育することで食品やバイオマス燃料として活用するための研究が行われている。そこで、生物育成に着目した技術科内容「B 生物育成の技術」の授業の一環として、イオン液体を用いた簡便な前処理を行い、SEM観察を行う。これらに関しては、今後の課題とする。

## 第5章 木材のSEM観察のための低濃度及び室温のイオン液体の短時間前処理法

### 5.1 はじめに

木材のSEM観察は、樹種同定において重要である。木質細胞の形態や配列を観察するためには、光学顕微鏡法(LM)が一般的に使用されている。SEMは、細胞壁の微細構造に基づいて木材に関する決定的な情報を得る重要な技術である。さらに、木材のSEM観察は、より広い範囲の科学的領域において有用な情報を与えている。一例として、教育、古環境復元や歴史的・考古学的研究などが含まれる。

木材分野において、SEM観察のための前処理手順は迅速かつ容易であることが望まれる。現生材は、保存するために水に浸けられており、急激な乾燥による収縮を防ぐために一度試料を乾燥させてから、真空蒸着法によって各木材の3断面(木口面や板目面、柀目面)の表面を金属でコーティングし、試料表面に薄膜を形成する必要がある(一連の手順を図17に示す)。さらに、考古学的文化財の出土木材を扱う際には、数百~数千もの莫大な数量の試料を前処理する場合があります、非常に手間と時間が要するため、簡便で迅速な前処理が求められている。

新しい前処理方法として、室温のイオン液体が生物試料のSEM観察を容易にすることが報告されている<sup>12),15),16),38)</sup>。最近、山下ら<sup>38)</sup>は、イオン液体の一種である1-エチル-3-メチルイミダゾリウムメチルホスホネートの希薄エタノール溶液による短時間(約3分間×3回)の前処理が、植物プランクトン及び動物プランクトンの有効な前処理であることが示されている。この前処理方法を木材試料に適用することによって、簡便かつ迅速な処理が期待できる。そこで本研究では、木材試料へのイオン液体の適用可能性について報告する。我々は、木材の解剖学的及び構造の典型的な特徴を有する木材種を使用した。異なる濃度のイオン液体を使用して、SEM画像における木質細胞の変形及び破壊の可能性を調べた。また現生材だけではなく考古学的出土木に対しても適用可能であるかを検討した。考古学的出土木材の針葉樹を使用した。考古学的出土木は脆く、容易に変形しやすいので、SEMで観察する上で従来の前処理方法は難しい。イオン液体を用いて考古学的出土木材を前処理できるならば、SEMの教育適用において社会科との教科横断的な授業を行うことが期待される。

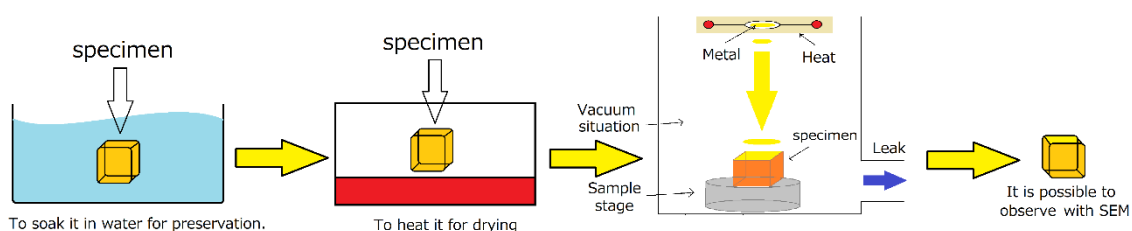


図17 SEM観察のための従来の前処理方法の一連手順

## 5.2 現生木材及び木質文化財材の標本名

表 6 は、この研究で使用した針葉樹及び、広葉樹木材の標本リストを示す。木質解剖学的に重要である基本的な特徴の微細構造を示している。標本として、スギ、カラマツ、ヒノキ、ケヤキ、ブナの現生木材を使用した。これらは、典型的な種類の木質解剖学的特性を有するため選択した。さらに、我々は、ヒノキの考古学的な出土木材を使用した。考古学的な出土標本は、ユネスコの世界文化遺産である奈良の歴史的建造物のひとつである東大寺の柱の一部から選抜した貴重な標本(AD 400)である。標本名と観察された各微細構造を表 6 に示す。

表 6 標本名

標本名(針葉樹)	木口面	板目面	柀目面
スギ ( <i>Cryptomeria japonica</i> )	早材 (Ew), 晩材 (Lw)	放射組織(R)	有縁壁孔(Bp) スギ型壁孔(Tp)
カラマツ ( <i>Larix gmelinii</i> )	同上	同上	有縁壁孔(Bp)
ヒノキ ( <i>Chamaecyparis obtusa</i> )	同上	同上	有縁壁孔(Bp)
ヒノキ ( <i>Chamaecyparis obtusa</i> ), 東大寺 AD 400	同上	同上	有縁壁孔(Bp) ヒノキ型壁孔(Cp)
標本名(広葉樹)	木口面	板目面	柀目面
ケヤキ ( <i>Zelkova serrata</i> )	大道管(V)	単せん孔(Sp), らせん肥厚(Th)	らせん壁厚(Th), 柔細胞ストランド(Ps)
ブナ ( <i>Fagus crenata</i> )	同上	単せん孔(Sp)	柔細胞ストランド(Ps)

### 5.3 木材試料の調整

#### ・光学顕微鏡観察のための試料調整

現生材と出土木材の木片試料表面を調整するため、マイクロトームを用いて約 1cm 立方体に切断した。これらを蒸留水に浸漬し、100℃で 5 時間煮沸して水分を飽和させ軟化させた後、マイクロトームを使用して、木片の三断面(木口面、板目面、柀目面)をそれぞれ 20~25 $\mu\text{m}$  の厚さに切断した。切断された試料を固定するために、エタノールを 10,30,50,70,100(%v / v)と濃度を徐々に上げて処理し、その後、キシレンでも同様に 10,30,50,70,100(%v / v)と濃度を上げて処理した。

#### ・SEM 観察のための試料調整

光学顕微鏡の試料調整と同様に、現生材と出土木材の木片試料表面をマイクロトームで、約 1cm 立方体に切断し、これらを蒸留水に浸漬し、100℃で 5 時間煮沸して水分を飽和させ軟化させた。その後、剃刀によって試料を 5mm 程度の立方体に切断した。5mm 立方体に切断することによって、真空引きに時間が掛からず真空劣化を防ぐことができる。さらに、試料を立方体にするによって、一回の前処理で各三断面の観察が可能になる。

### 5.4 イオン液体を用いた木材の前処理法

図 18 で示しているように、試料をエタノールで希釈した 10 wt%のイオン液体の常温の溶液に約 10 分程度浸ける。その後、試料をカーボン両面テープに載せて自然乾燥を約 1 分程度行うことで SEM 観察が可能になる。通常の木材は絶縁性なので、電子ビームが照射されるとチャージアップし、鮮明な SEM 画像が得られない。そのため、導電性を良くするために、蒸着や銀導電性ペーストで固定する必要がある。しかし、イオン液体で前処理された試料は溶媒に浸けられているため、全ての表面に導電性を有し、銀導電性ペーストで固定する必要がない。

本実験では、イオン液体として 1-エチル-3-メチルイミダゾリウムメチルホスホネート(関東化学(株)社製)を、また光学顕微鏡は、SMZ18(Nikon(株)社製)を用いた。

また走査型電子顕微鏡は、JCM-5000(日本電子(株)社製)を用いて、 $10^{-2}\text{Pa}$  以下の高真空に設定し、加速電圧 10 kV で観察した。



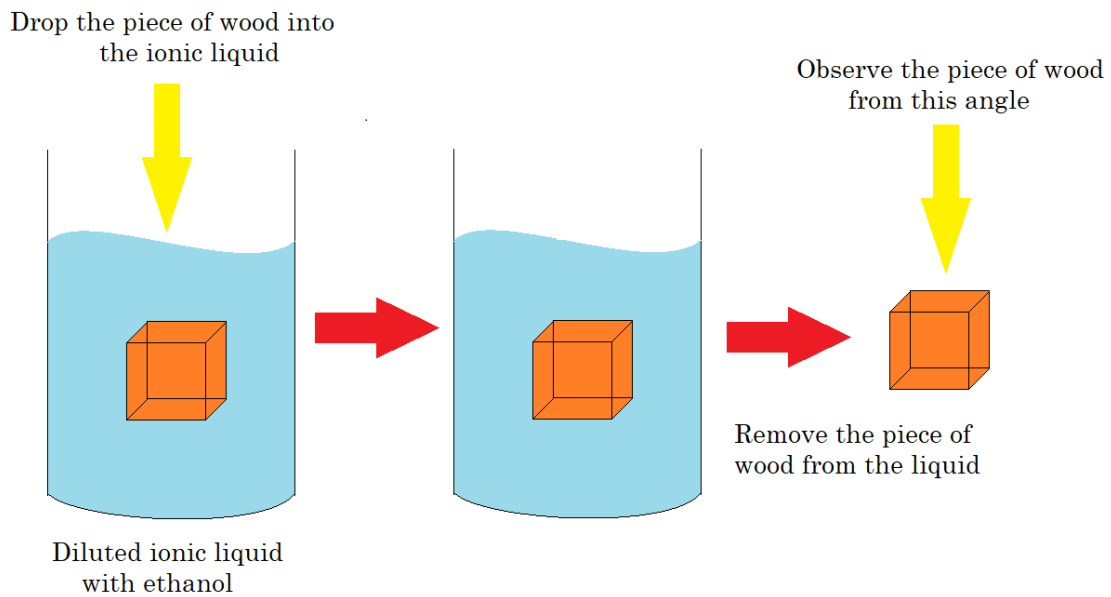


図 18 木材観察のためのイオン液体を用いた前処理手順

### 5.5 イオン液体濃度による比較

イオン液体の濃度による違いを検証するために、ケヤキの木口面の SEM 観察を行った。図 19 は、エタノールで希釈されたイオン液体の 1,10 及び 30 wt%濃度の木口面の SEM 画像を示している。本実験の結果から、エタノールで希釈をしたイオン液体 10 wt%の濃度で木口面の構造が鮮明に SEM 画像から得られた (図 19b に示す)。

一方、1 wt%濃度(図 19a)の画像では、表面がチャージアップしているため、全体像が白く不鮮明である。この原因として、濃度が低すぎてイオン液体の層が試料表面に十分形成できなかったと考えられる、特に直径が大きい大道管では、イオン液体が流れてしまい、付着しにくいと考えられるため顕著にチャージアップが起こった。図 19c では、イオン液体濃度が 30 wt%と高いために余分なイオン液体が表面上に残ってしまい、SEM 像が少し不鮮明であった。さらに、濃度が高いためにイオン液体が大道管を通過することができない。その結果、余分なイオン液体が大道管上に残留した。

したがって、この比較は、10 wt%濃度のイオン液体が木材試料の SEM 観察に最適であることを示唆している。木材の最適濃度、すなわち 10 wt%は、植物プランクトン及び動物プランクトンの濃度(それぞれ 0.5 wt%及び 1 wt%)よりもかなり高いことに留意すべきである。

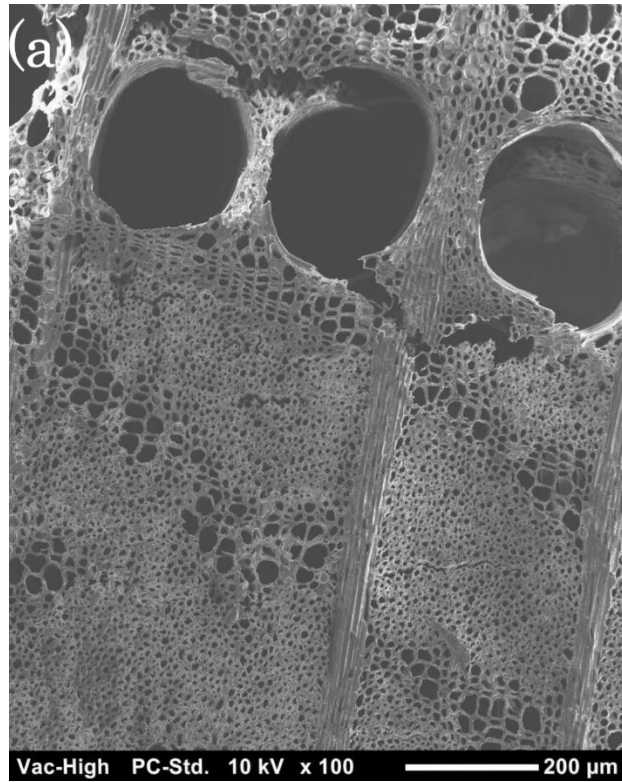


図 19(a) イオン液体濃度 1 wt% (ケヤキ木口面)

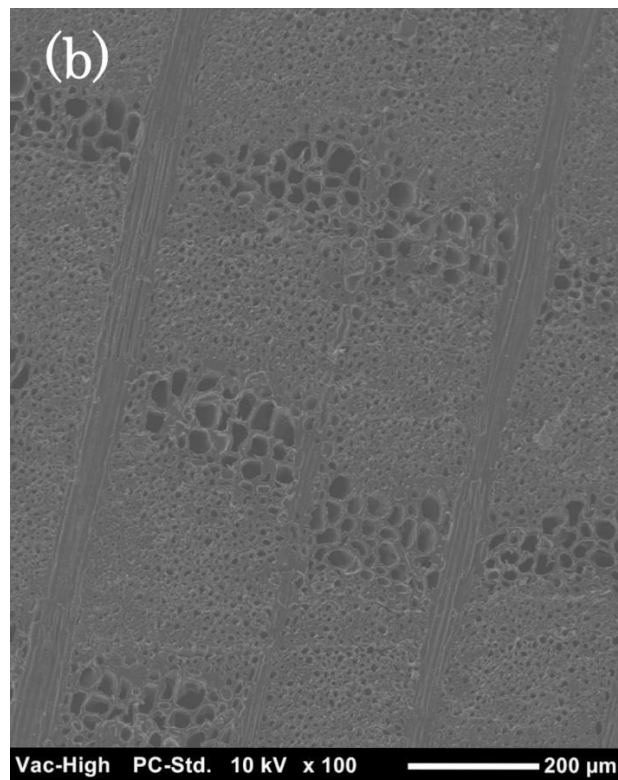


図 19(b) イオン液体濃度 10 wt% (ケヤキ木口面)

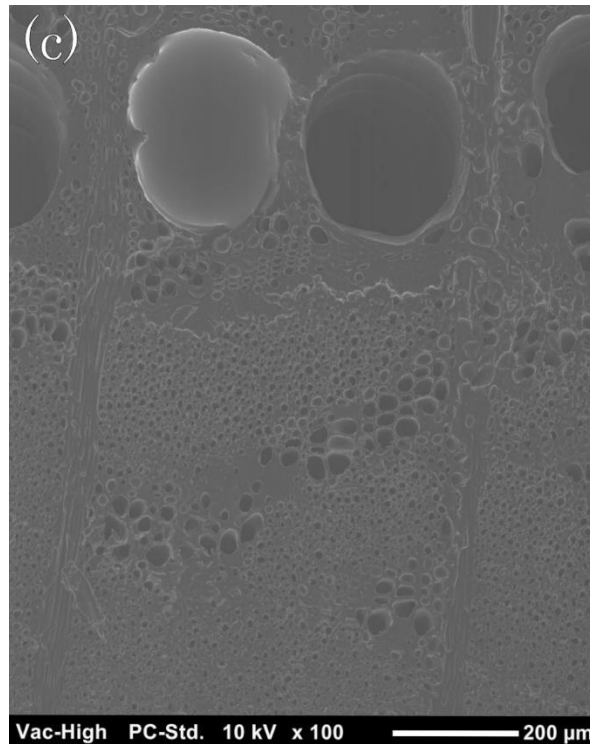


図 19(c) イオン液体濃度 30 wt% (ケヤキ木口面)

## 5.6 各種木材の SEM 観察

以下の木材組織構造に関する記載については、島地・伊東（1982）等に依拠した。<sup>41)</sup>

### ・スギ (*Cryptomeria japonica*)

光学顕微鏡で観察されたスギの木口面を図 20 に示す。スギは、解剖学的に早材(Ew)、晩材(Lw)、放射組織(R)、有縁壁孔(Bp)、スギ型壁孔(Tp)によって特徴付けられる(各断面の SEM 画像を図 21 に示す)。

#### ・木口面

スギの木口面の特徴として早期から晩期への移行はやや急で、晩材の幅が比較的広く、また年輪界が明確である。図 21(a)に示す。

#### ・板目面

早・晩材移行部の板目断面である。仮道管の間に串団子のように見えるのは、放射組織(図 21(b)に示す)である。放射組織は、単列で、多くは 10 細胞高以下(拡大図を図 21(c)に示す)である。

#### ・柾目面

早材部の板目断面である。早材部では、軸方向要素は、直径が大きく壁の薄い仮道管のみからなっており、その放射壁上には、多数の有縁壁孔が正面を見せて一列に並んでいる(図 21(d)と拡大図を図 21(e)に示す)。さらに、スギ型壁孔(図 21(f)に示す)が分野壁孔(模式図を図 22 に示す)上に存在することを確認した。

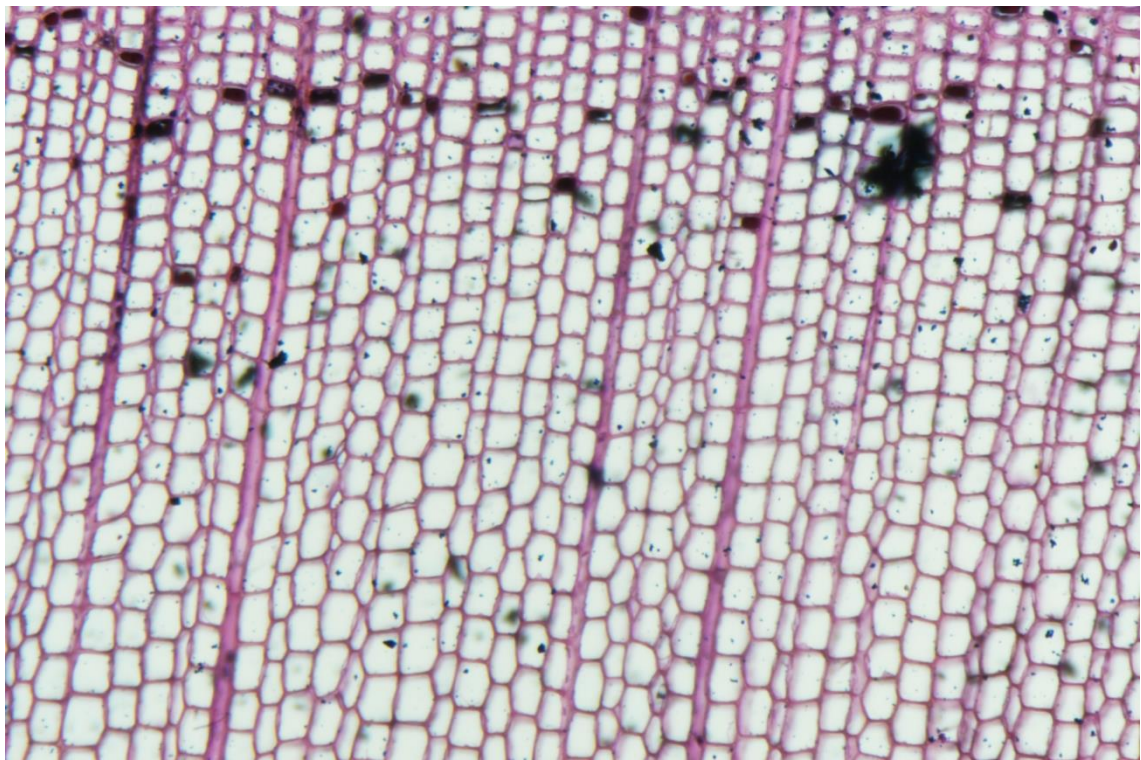


図 20 光学顕微鏡観察されたスギ(*Cryptomeria japonica*)の木口面

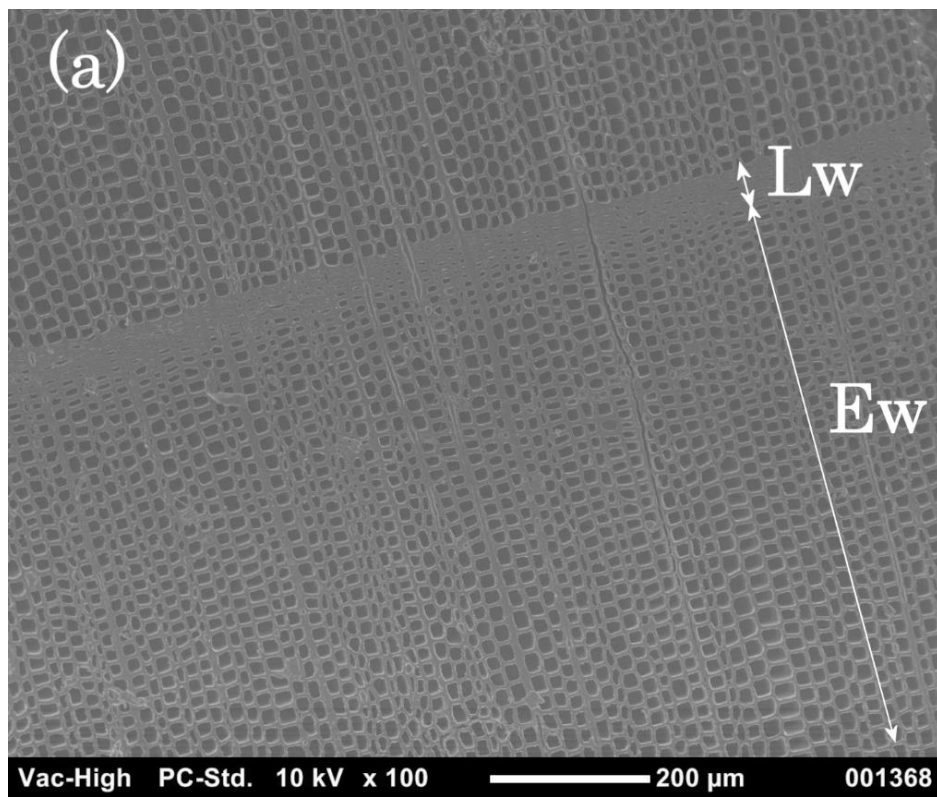


図 21(a) SEM 観察されたスギ(*Cryptomeria japonica*)  
早材部 (Ew) と晩材部 (Lw) (木口面)

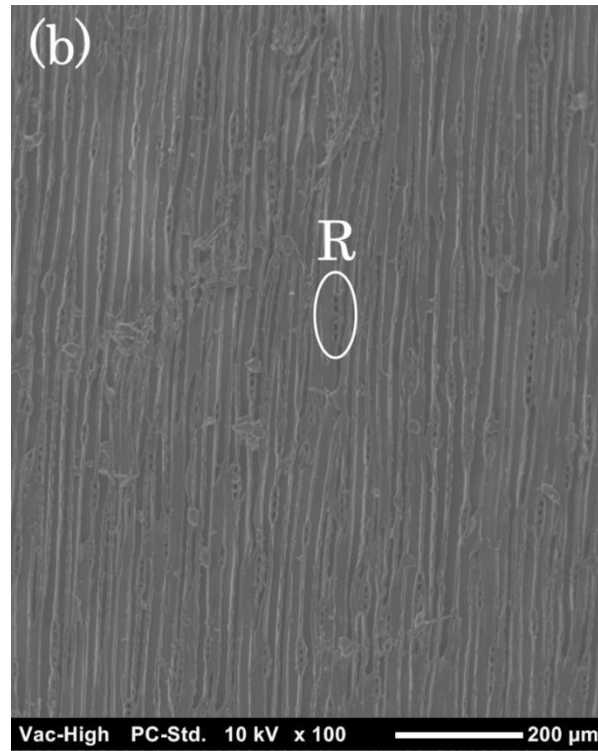


図 21(b) SEM 観察されたスギ(*Cryptomeria japonica*)  
放射組織(R) (板目面)

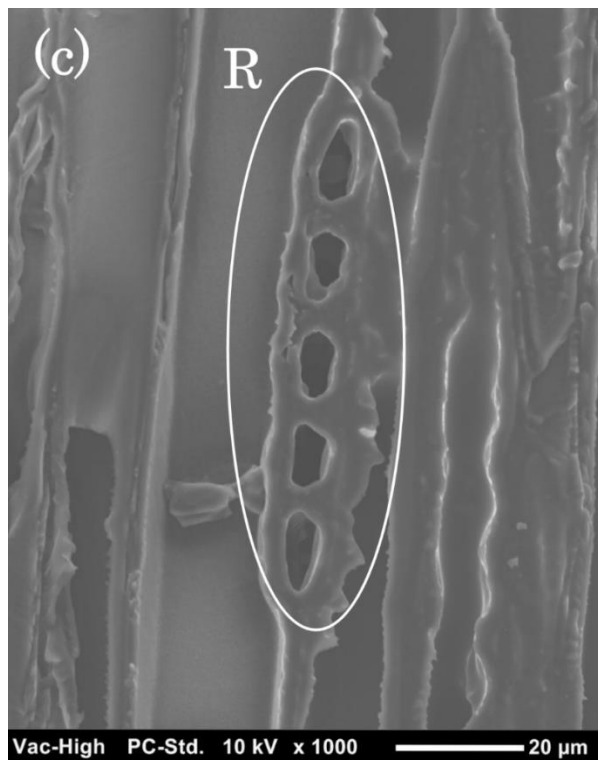


図 21(c) SEM 観察されたスギ(*Cryptomeria japonica*)  
放射組織(R)の拡大図 (板目面)

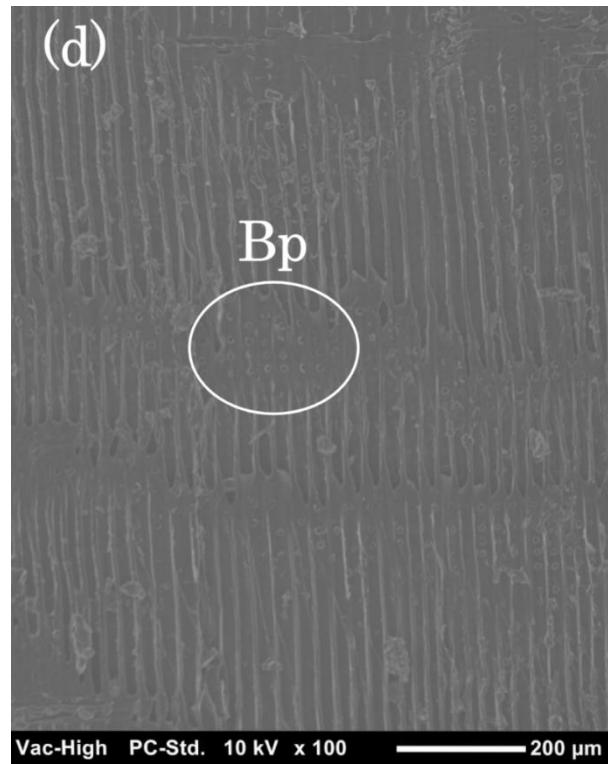


図 21(d) SEM 観察されたスギ(*Cryptomeria japonica*)  
有縁壁孔(Bp) (栓目目)

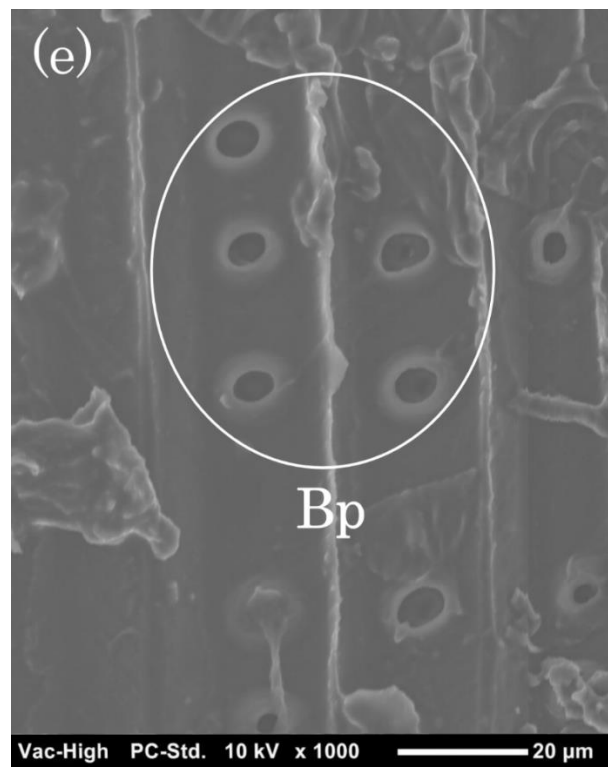


図 21(e) SEM 観察されたスギ(*Cryptomeria japonica*)  
有縁壁孔(Bp)の拡大図 (栓目目)

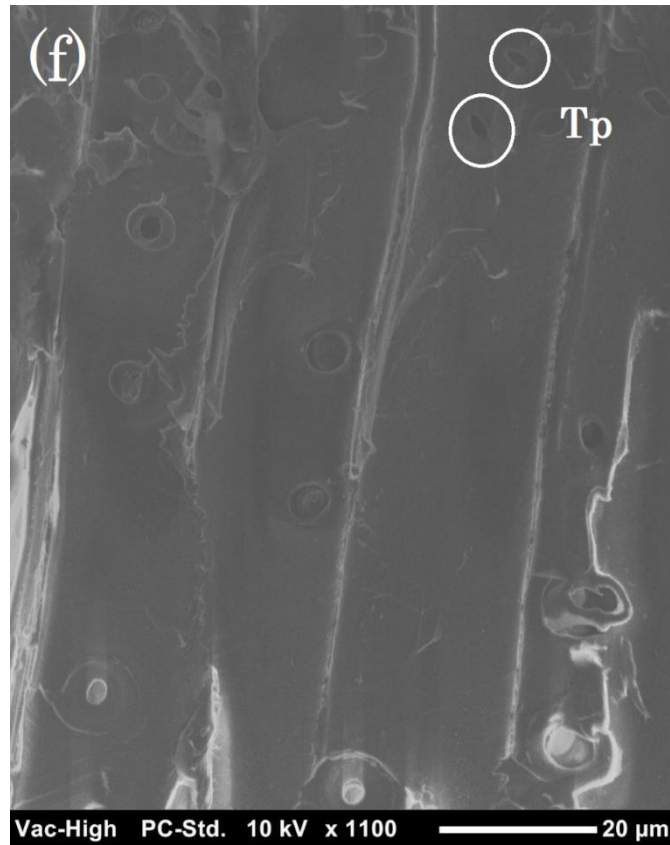


図 21(f) SEM 観察されたスギ(*Cryptomeria japonica*)  
スギ型壁孔(Tp) (柁目目)

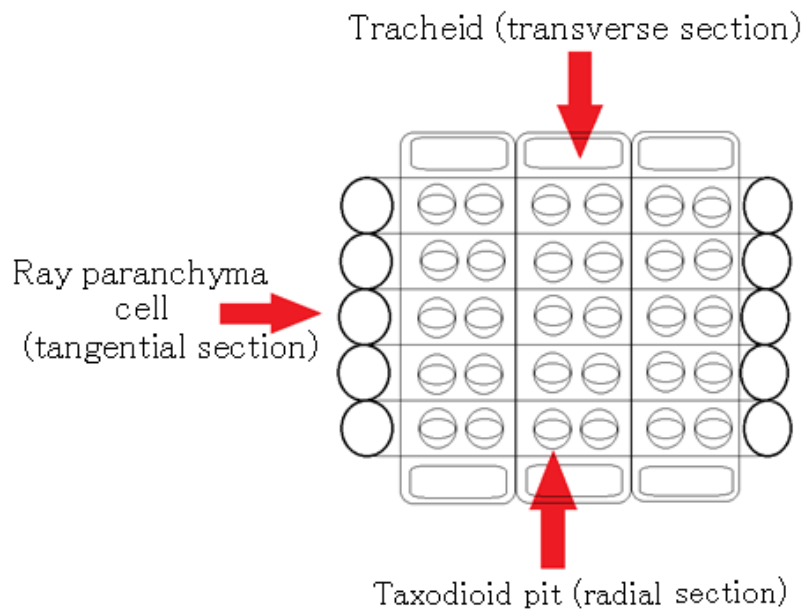


図 22 分野壁孔の模式図

・カラマツ (*Larix gmelinii*)

光学顕微鏡で観察されたカラマツの木口面を図 23 に示す。カラマツは、解剖学的に早材(Ew), 晩材(Lw), 放射組織(R), 有縁壁孔(Bp), によって特徴付けられる(各断面の SEM 画像を図 24 に示す)。

・木口面

カラマツの木口面の特徴として早期から晩期への移行きわめて急激で、仮道管の細胞壁の厚さの相違によってはっきりと早材と晩材の境界を示すことができる。また、年輪界が明確である。図 24(a)に示す。

・板目面

放射組織は単列で 1~20 細胞高である。中央やや左寄りに中央部が多列になった紡錘型放射組織が見られ、中央にある空洞部は、水平樹脂道の断面である。図 24(b)に示す。

・柾目面

図の中央に晩材部仮道管が見られ、晩材部の左右に見られるのが早材部仮道管の放射壁である。その放射壁上から大型の有縁壁孔が数多く見られる。図 24(c)に示す。

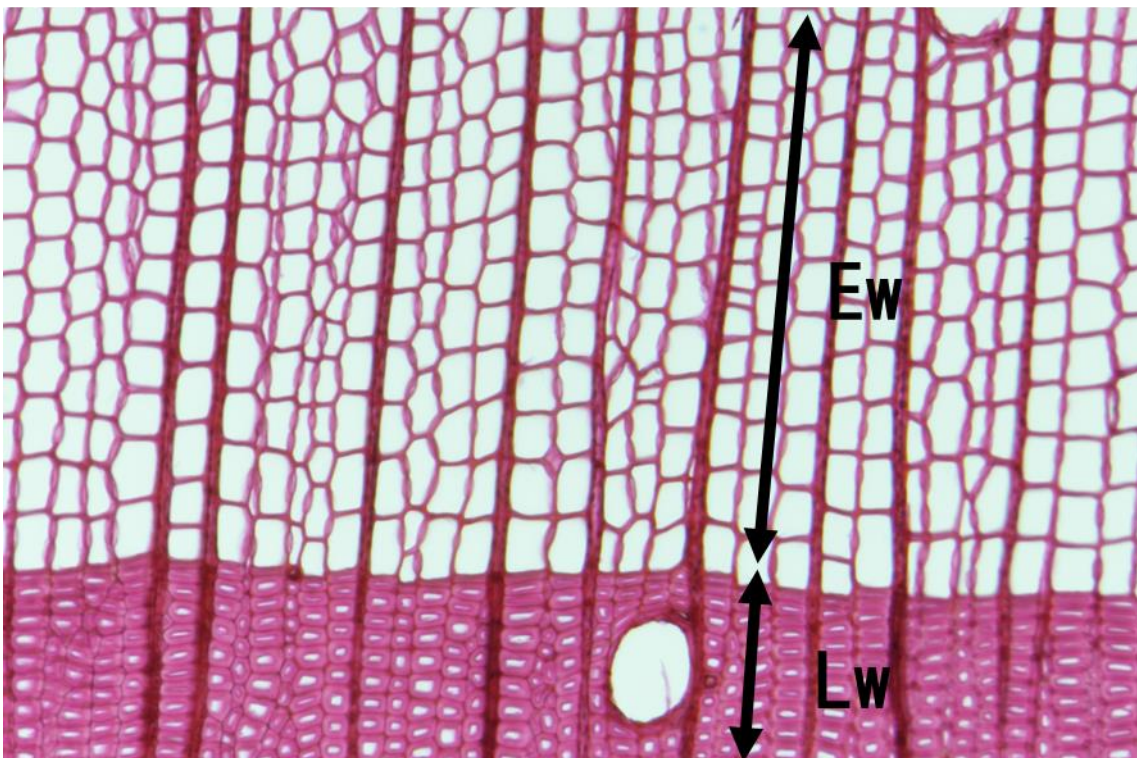


図 23 光学顕微鏡観察されたカラマツ(*Larix gmelinii*)  
早材部 (Ew) と晩材部 (Lw) (木口面)



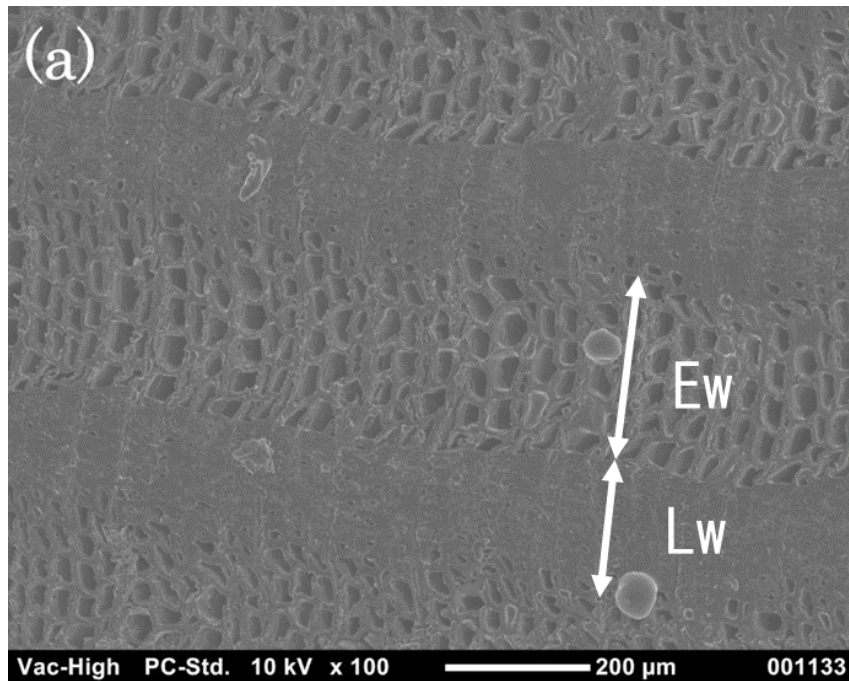


図 24(a) SEM 観察されたカラマツ(*Larix gmelinii*)  
早材部 (Ew) と晩材部 (Lw) (木口面)

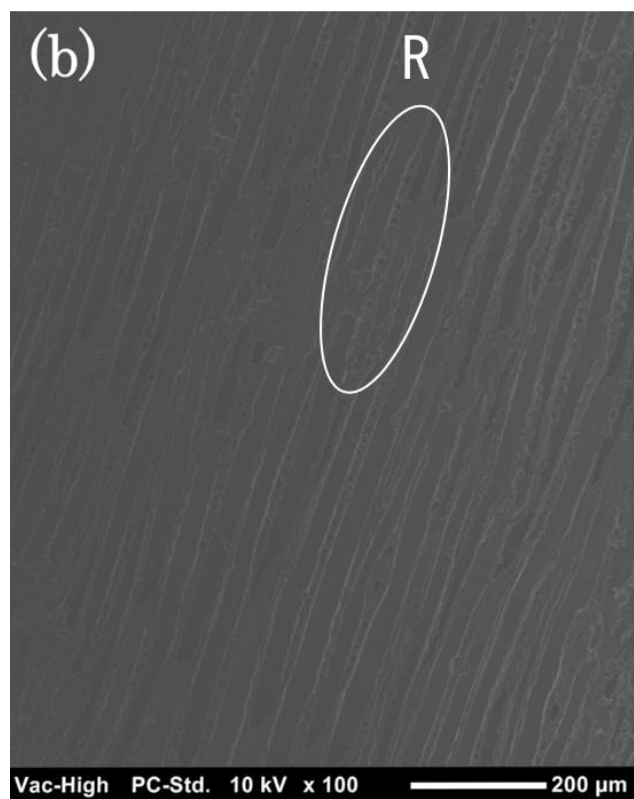


図 24(b) SEM 観察されたカラマツ(*Larix gmelinii*)  
放射組織(R) (板目面)

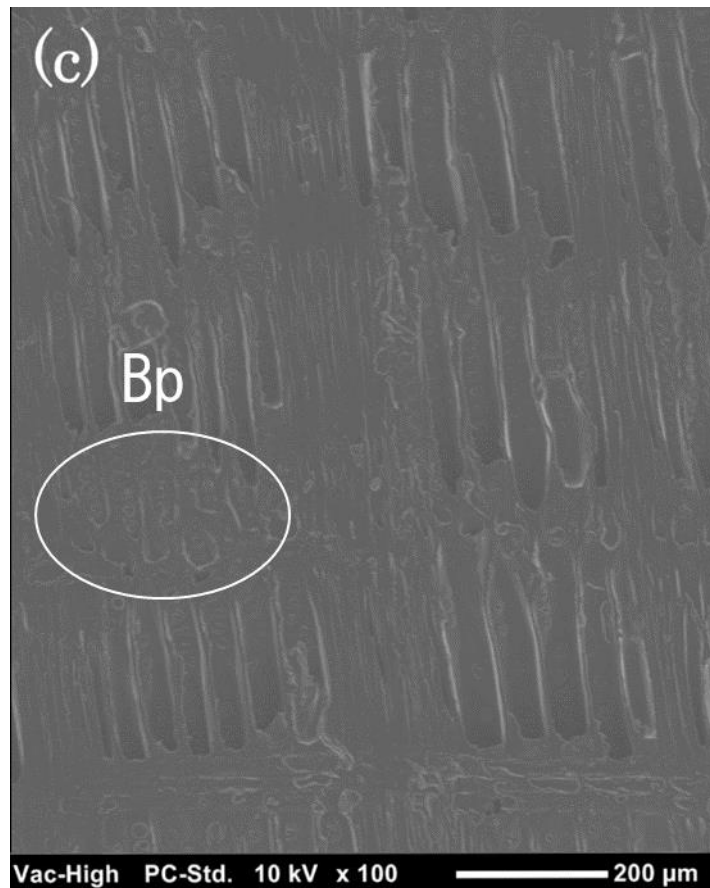


図 24(c) SEM 観察されたカラマツ(*Larix gmelinii*)  
有縁壁孔(Bp) (柾目目)

・ヒノキ (*Chamaecyparis obtusa*)

光学顕微鏡で観察されたヒノキの木口面を図 25 に示す。ヒノキは、解剖学的に早材(Ew)、晩材(Lw)、放射組織(R)、有縁壁孔(Bp)によって特徴付けられる(各断面の SEM 画像を図 26 に示す)。

・木口面

早材から晩材への移行はゆるやかで晩材部の幅は、きわめて狭く、均質緻密な材質であるのが見られ、年輪の最外部に晩材部仮道管に混じって薄壁で樹脂様物質を含んだ樹脂細胞も観察される。図 26(a)に示す。

・板目面

中央に短冊型の細胞が縦に連なって 1 本のストランドをなしているのが見られる。これは、放射組織である。図 26(b)に示す。

・柾目面

早材部仮道管の放射壁には 1 列に並んだ大型の有縁孔が図の中央に見られる。図 26(c)に示す。

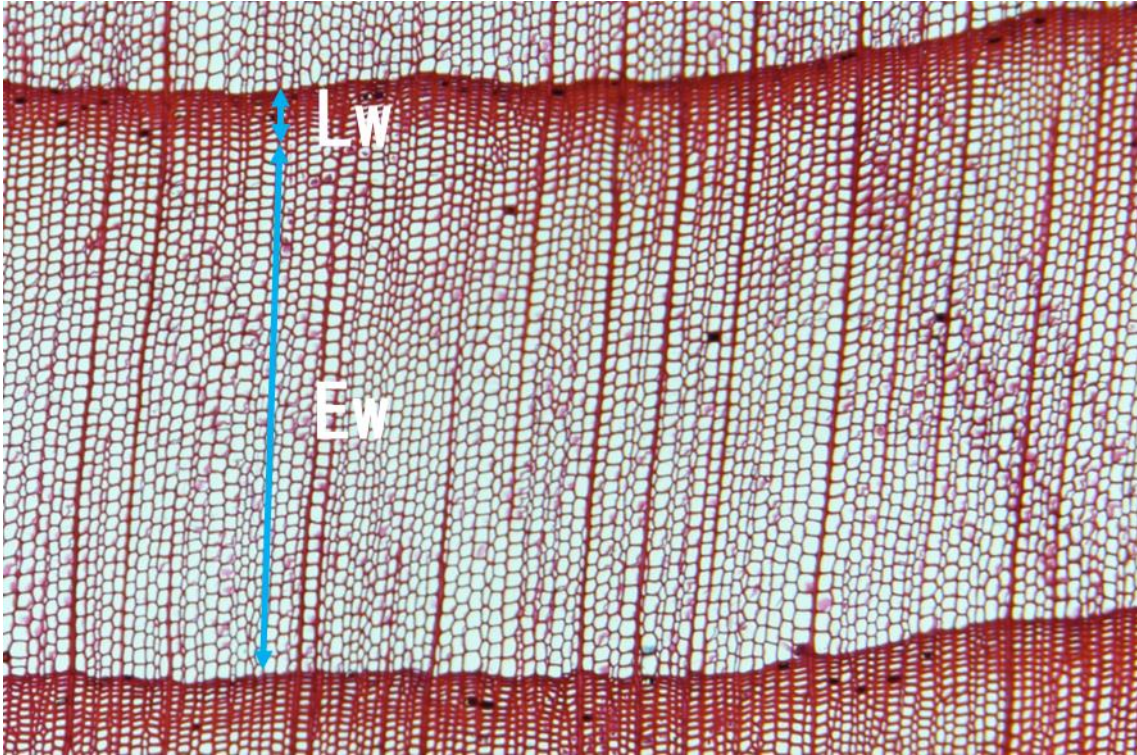


図 25 光学顕微鏡観察されたヒノキ(*Chamaecyparis obtusa*)  
早材部 (Ew) と晩材部 (Lw) (木口面)

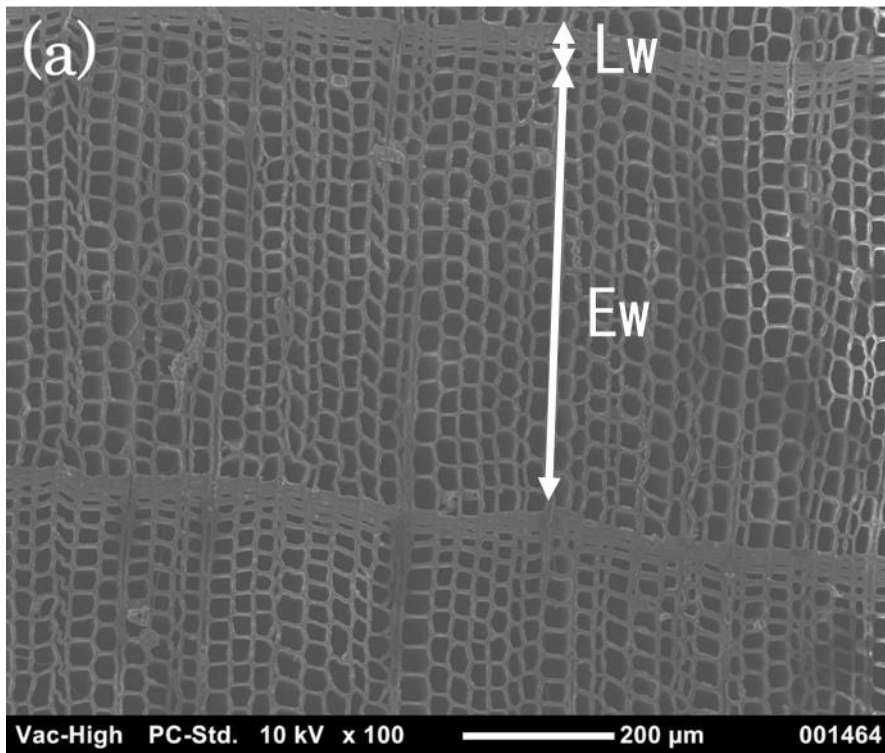


図 26(a) SEM 観察されたヒノキ(*Chamaecyparis obtusa*)  
早材部 (Ew) と晩材部 (Lw) (木口面)

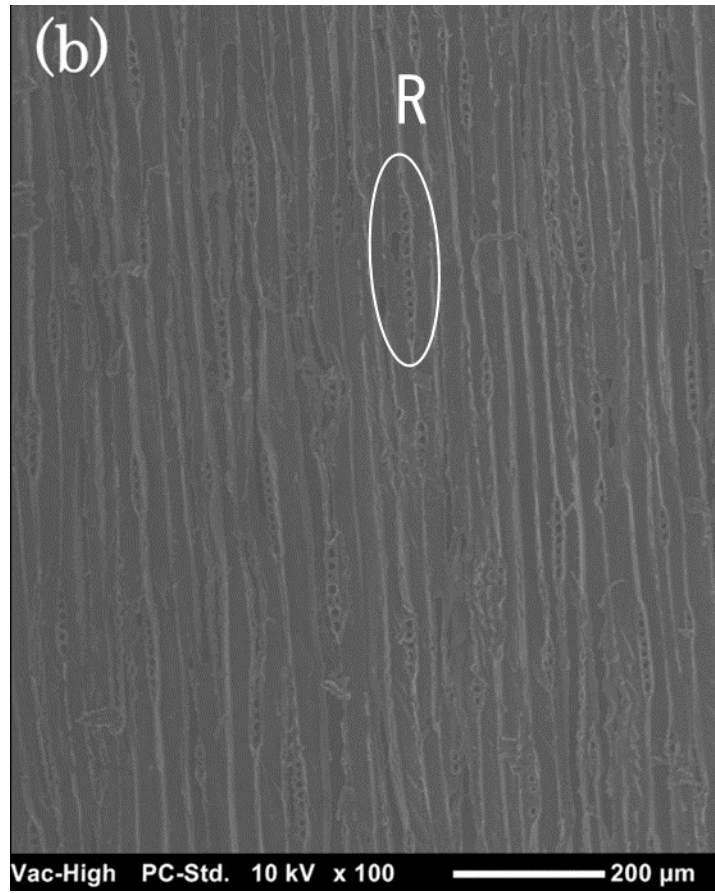


図 26(b) SEM 観察されたヒノキ(*Chamaecyparis obtusa*)  
放射組織(R) (板目面)

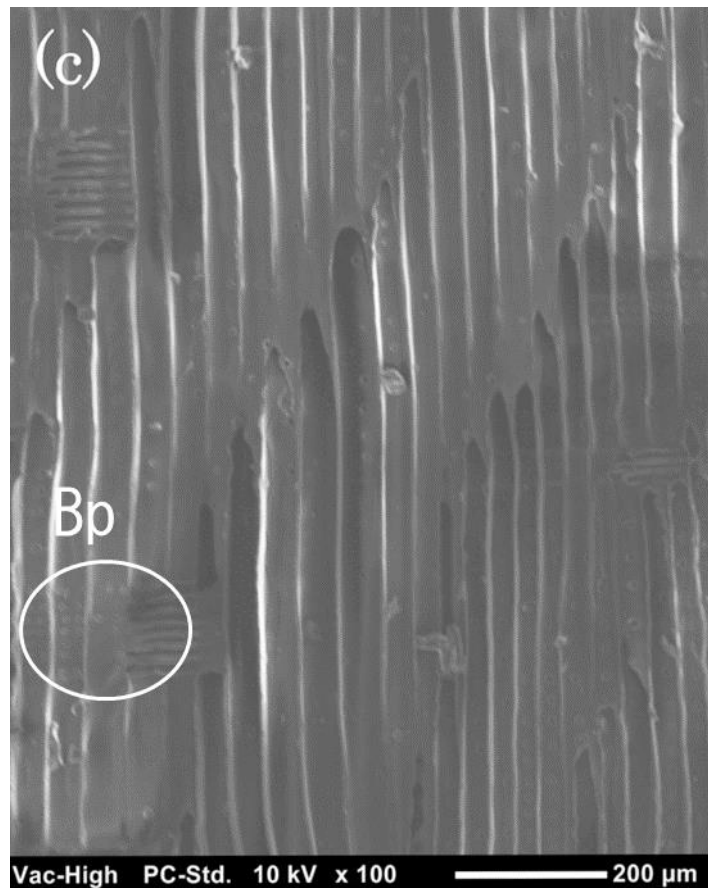


図 26(c) SEM 観察されたヒノキ(*Chamaecyparis obtusa*)  
有縁壁孔(Bp) (柾目目)

・ケヤキ (*Zelkova serrata*)

光学顕微鏡で観察されたケヤキの木口面を図 27 に示す。図 28 は、ケヤキ (*Zelkova serrata*) の SEM 画像を示す。ケヤキの解剖学的特徴は、大道管(V)、柔細胞ストランド(Ps)、単せん孔(Sp)、らせん肥厚(Th)によって特徴付けられる。

・木口面

環孔材で年輪界に沿って大道管が通常 1 列明瞭な孔圏部をつくって並んでおり、孔圏外で急に道管の大きさを減じているのが見られ、孔圏部の大道管(図 28(a)に示す。)は、おおむね円形で単独であるが、孔圏外の小道管は、多角形で多数集まって円形、接線状あるいは斜線状あるいは斜線上の集団管孔を形成しているのを観察される。

・板目面

孔圏外の部分の板目切片である。小道管の集団が示されており、それらの側壁に明瞭ならせん肥厚が見られる。(図 28(b)に示す。)また、小道管の集団のまわりのみ柔細胞ストランドが観察される。その他の軸方向要素は、木繊維である。放射組織から大型の紡錘型放射組織が見られる。

・ 柾目面

年輪界のそばの孔圏部の大道管が見られ、その周囲を軸方向柔細胞のストランド(図 28(c)に示す。)が包んでいる。道管は単せん孔でせん孔縁が見られる、いずれも側壁らせん肥厚を有することがわかる。図 28(d)に示す。



図 27 光学顕微鏡観察されたケヤキ(*Zelkova serrata*)  
大道管(V) (木口面)

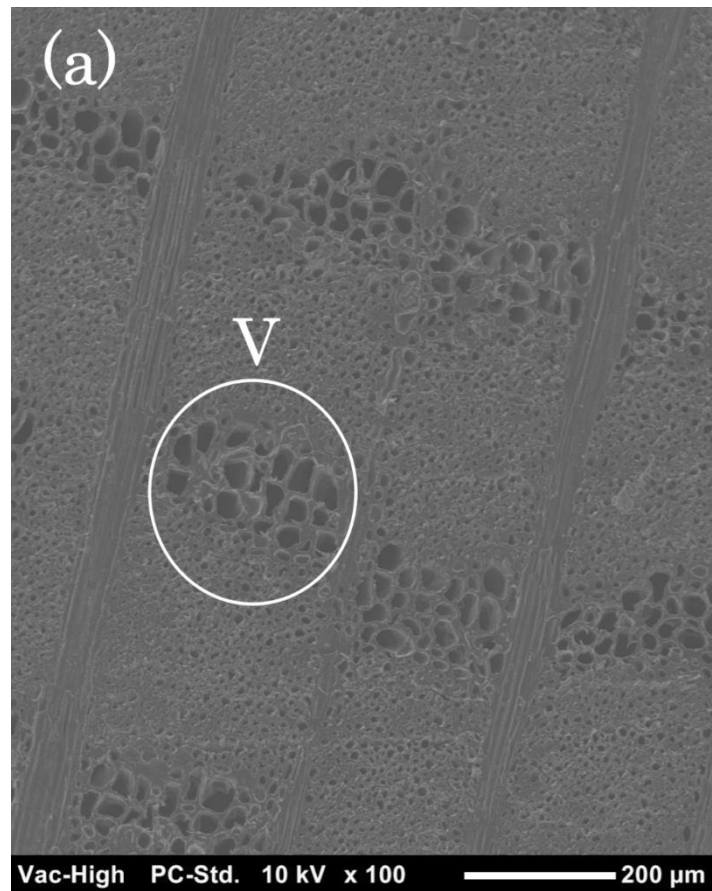


図 28(a) SEM 観察されたケヤキ(*Zelkova serrata*)  
大道管(V) (木口面)

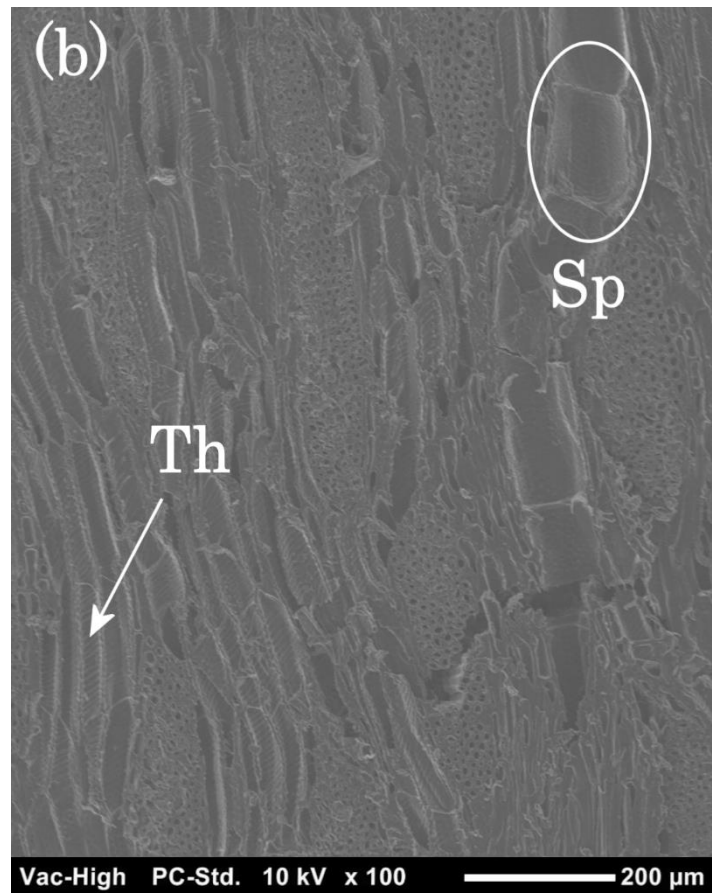


図 28(b) SEM 観察されたケヤキ(*Zelkova serrata*)  
単せん孔(Sp), らせん肥厚 (Th) (板目面)



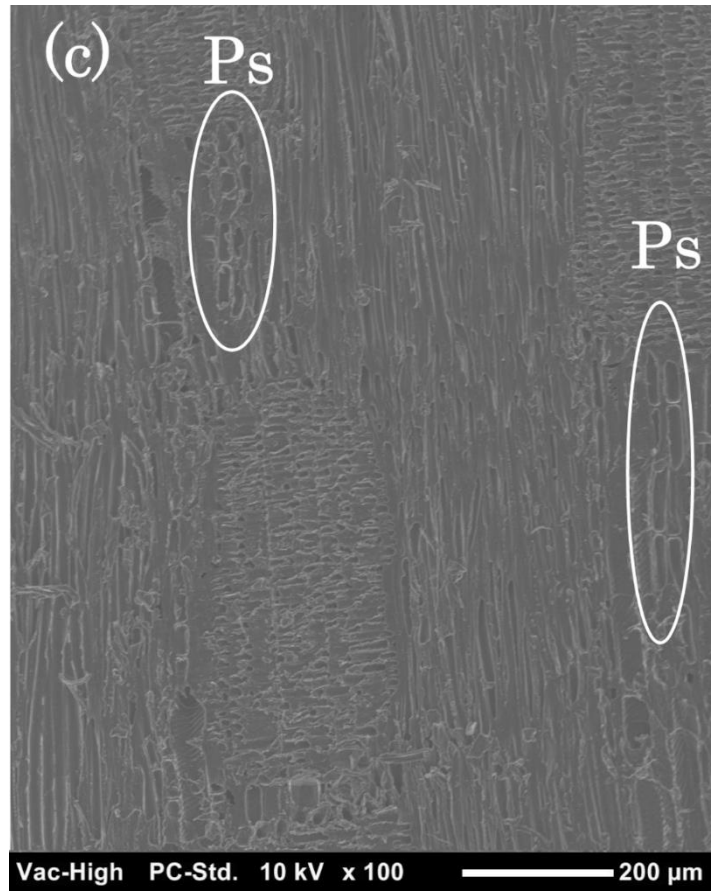


図 28(c) SEM 観察されたケヤキ(*Zelkova serrata*)  
柔細胞ストランド(Ps) (柾目面)

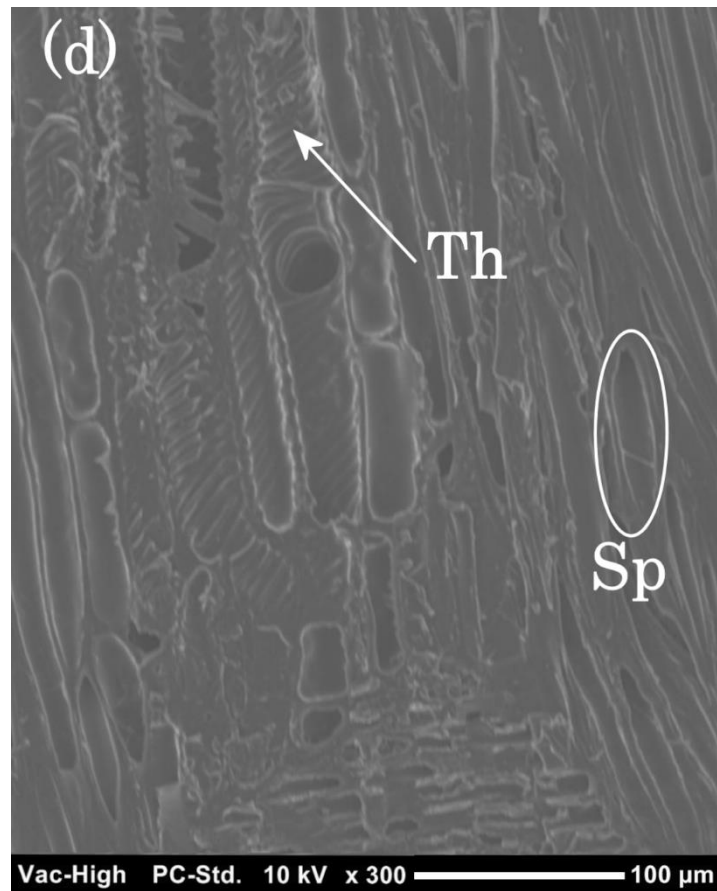


図 28(d) SEM 観察されたケヤキ(*Zelkova serrata*)  
単せん孔(Sp), らせん肥厚 (Th) (柾目面)

・ブナ (*Fagus crenata*)

光学顕微鏡で観察されたブナの木口面を図 29 に示す。図 30 は、ブナ (*Fagus crenata*) の SEM 画像を示す。ブナの解剖学的特徴は、大道管(V), 柔細胞ストランド(Ps), 単せん孔(Sp)によって特徴付けられる。

・木口面

散孔材で道管は、ほぼ平等に散在するが、年輪の前半部の道管の方が大きく、年輪の外側に行くにつれて次第に大きさ及び、数の減少が見られる(図に 30(a)に示す)。年輪の始めと終わりにおける道管の大きさと数の相違のために、年輪界は肉眼的にやや明瞭である。

・板目面

図 30(b)の矢印で示すように、2~3 mmの高さをもった紡錘形放射組織がはっきり確認できる。

・柾目面

図 30(c)に示すように、複数の道管上に、単せん孔が見られ、柔細胞ストランドが現れているのが確認できる。

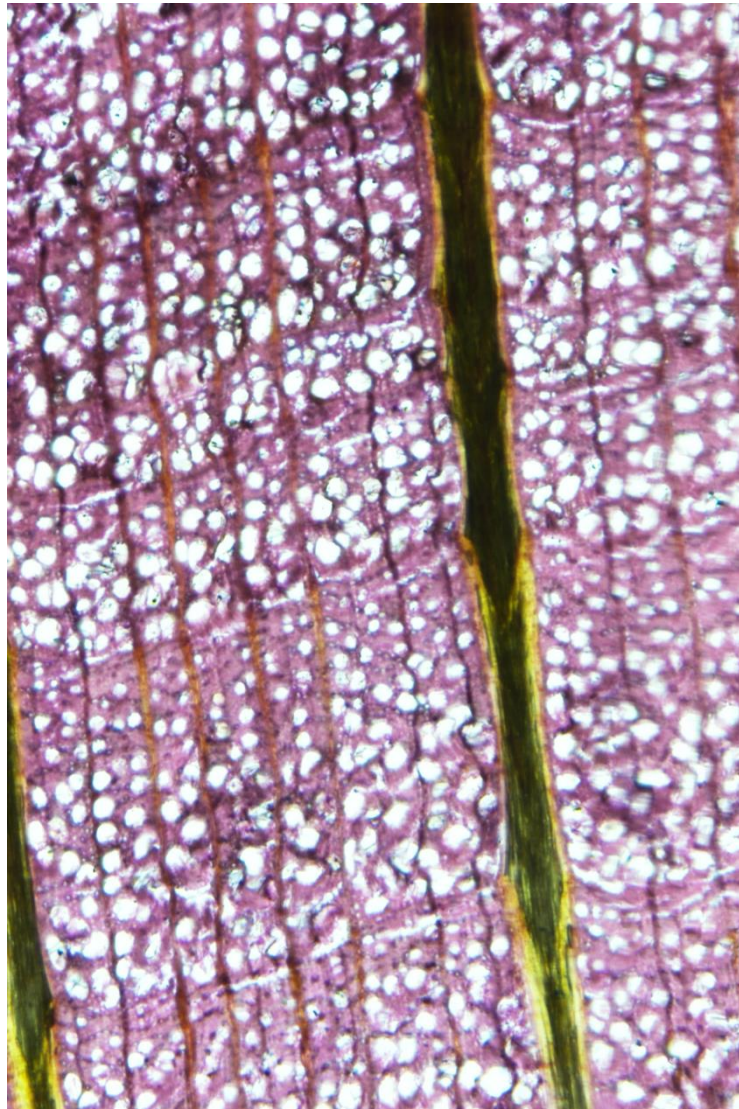


図 29 光学顕微鏡観察されたブナ(*Fagus crenata*)の木口面

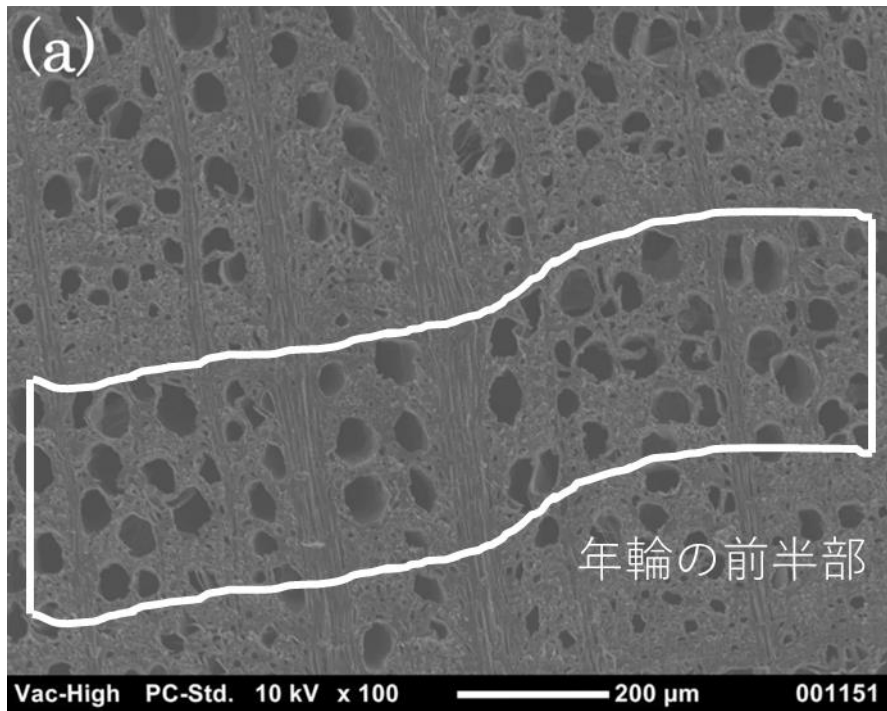


図 30(a) SEM 観察されたブナ(*Fagus crenata*)の木口面

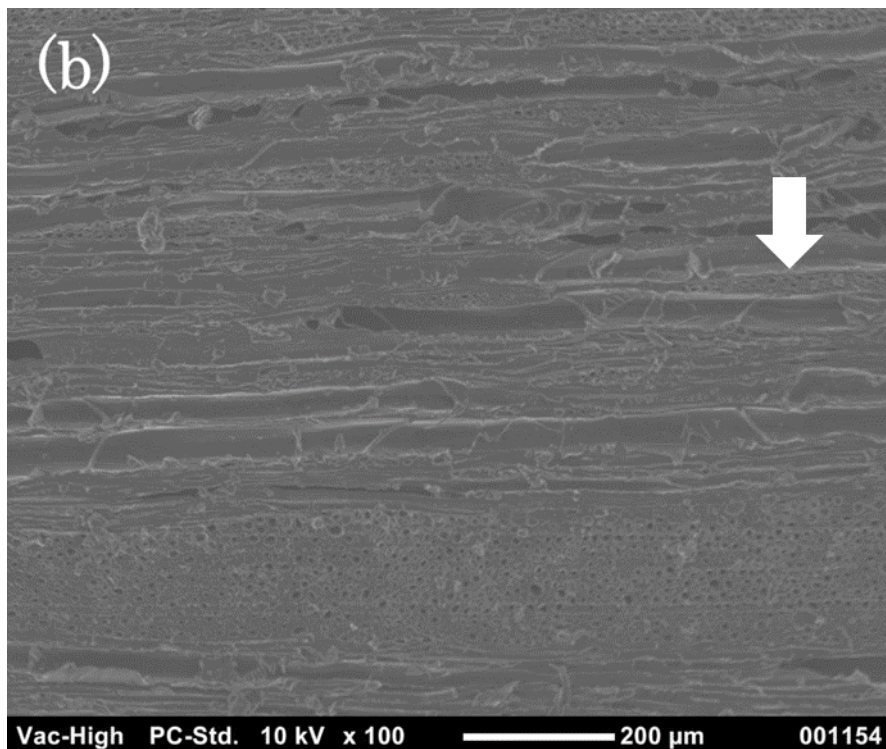


図 30(b) SEM 観察されたブナ(*Fagus crenata*)の板目面

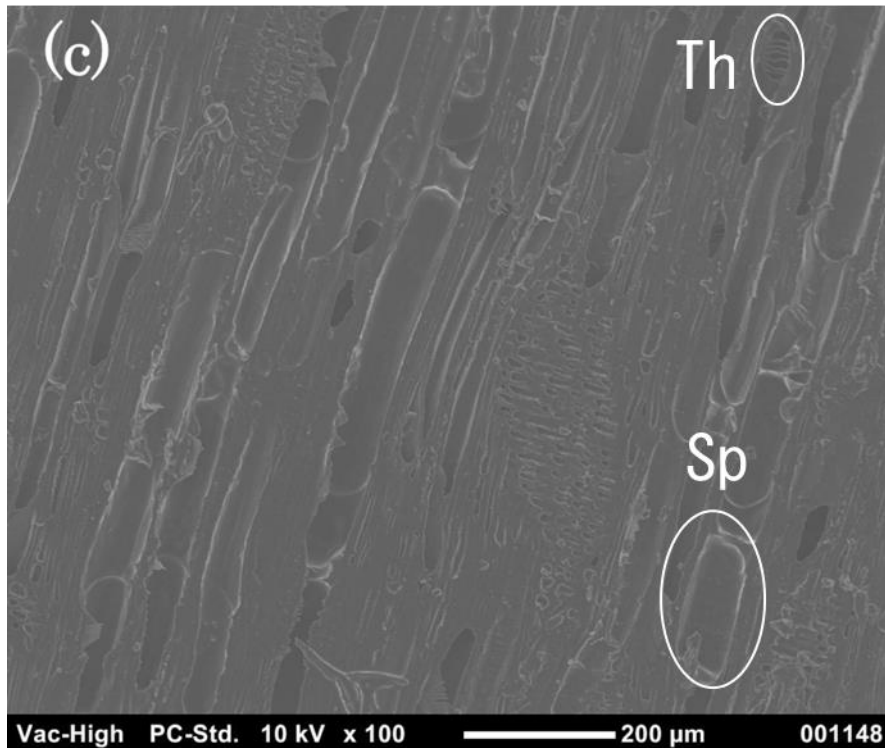


図 30(c) SEM 観察されたブナ(*Fagus crenata*)の柁目面

### 5.7 木質文化財への適用

我々は、適用範囲を広げるためにヒノキの木質文化財を使用した。木質文化財標本は、ユネスコの世界文化遺産である奈良時代の歴史的建造物のひとつである東大寺として知られている柱から集められたものである。

図 31 は、ヒノキ(*Chamaecyparis obtusa*)の考古学的出土木材の SEM 画像を示している。ヒノキは、解剖学的に早材(Ew)、晩材(Lw)、放射組織(R)、有縁壁孔(Bp)、ヒノキ型壁孔(Cp)によって特徴付けられる(各断面の SEM 画像を図 31 に示す)。標本採取部位の年輪年代は AD400 前後である (Yonenobu and Eckstein, 2006)。

- ・ 木口面

早材から晩材への移行はゆるやかで晩材部の幅は、きわめて狭く、均質緻密な材質であるのが見られた。(図 31(a)に示す。)

- ・ 板目面

中央に短冊型の細胞が縦に連なって 1 本のストランドをなしているのが見られる(拡大図を図 31(b)に示す)。これは、放射組織である。

・ 柾目面

早材部仮道管の放射壁には1列に並んだ大型の有縁孔が見られる(拡大図を図32(c)に示す)。さらに、放射組織が示されているが、これらはすべて放射柔細胞からなり、分野壁孔は典型的なヒノキ型で1分野に2個存在することが確認できる(拡大図を図31(d)に示す)。

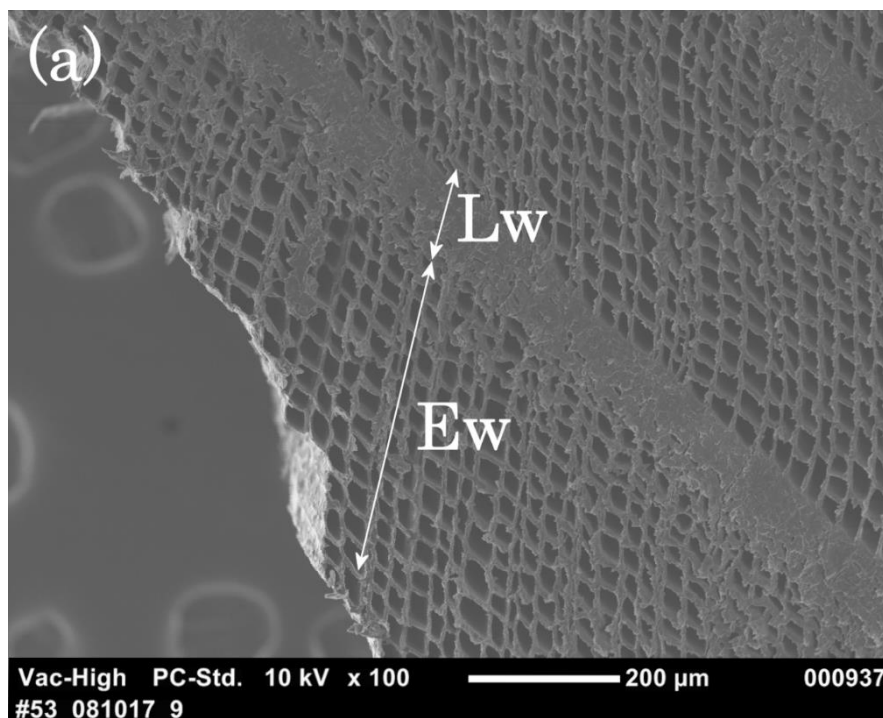


図 31(a) SEM 観察されたヒノキ(*Chamaecyparis obtusa*)  
早材(Ew)と晩材(Lw) (木口面)

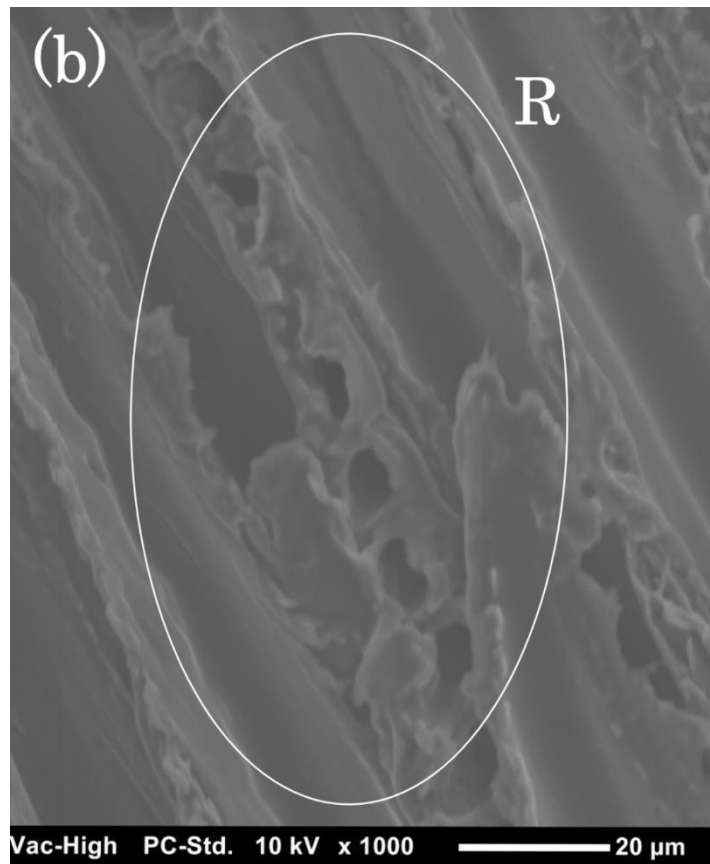


図 31(b) SEM 観察されたヒノキ(*Chamaecyparis obtusa*)  
放射組織(R) (板目面)

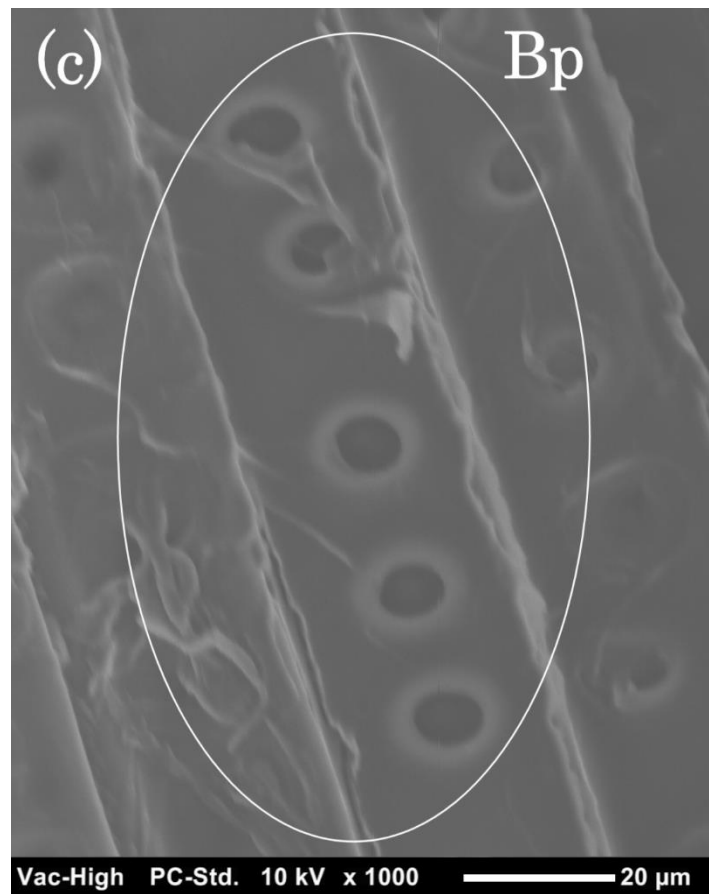


図 31(c) SEM 観察されたヒノキ(*Chamaecyparis obtusa*)  
有縁壁孔(Bp) (柁目面)



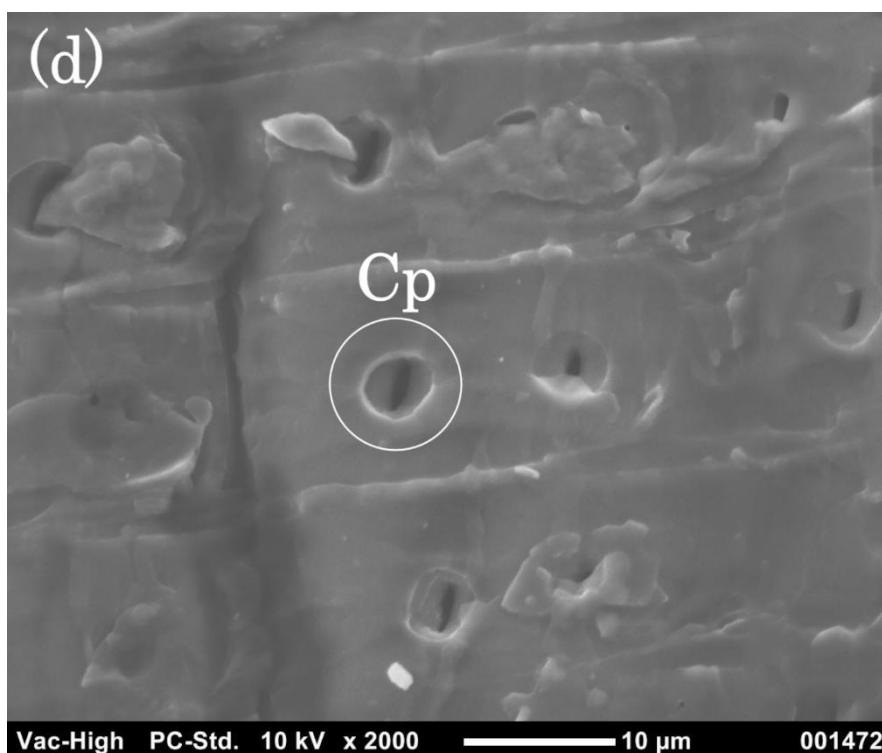


図 31(d) SEM 観察されたヒノキ(*Chamaecyparis obtusa*)  
ヒノキ型壁孔(Cp) (柾目面)

### 5.8 SEM 観察のための前処理と木材溶解のためのバイオマス適用との比較

イオン液体を用いたバイオマスの処理は、リグニン及びセルロースの溶解を促進し、有望な処理技術であることが示されている<sup>37)</sup>。しかしながら、我々のイオン液体を用いた SEM 観察の前処理では、エタノールを溶媒とした室温イオン液体 10 wt% の低濃度が木材の SEM 観察に有用な前処理であることを示した。イオン液体は、木材のセルロースやリグニンを溶解するバイオマス分野での転換技術として開発されたため、我々の SEM 観察のための前処理とは、処理条件が大きく異なることが分かった。観察を行った。実験条件を表 7 に示す。

先行研究<sup>20)-22)</sup>では、イオン液体用いた処理が木材細胞の破壊に影響を与えることが報告されている。処理条件として、原液の 1-エチル-3-メチル-1,3-プロパンジオールにスギ(*Cryptomeria japonica*)を 120°C で 48 時間加熱する。この実験では、木材細胞の崩壊は、主に晩材部で起こることが報告されている。

SEM 観察のための前処理条件と木材溶解のための処理条件を比較した。表 8 に処理条件の比較と図 32 に比較図を示す。表 8 (a) の処理では、図 32(a) に見られるように晩材部分に変形や溶解が見られない。一方、表 8 (b) のバイオマス処理の条件では、図 32(b) に示すように晩材部分の溶解が見られた。両者の違いはイオン液体の濃度・温度・処理時間である。すなわち、バイオマス処理では、高温で高濃度、長時間の前処

理が行われるため、木材細胞の溶解の化学反応が促進される。一方、SEM 観察の前処理では、室温、低濃度、短時間処理をしているため木材細胞溶解に影響を与える可能性が非常に低いと考えられる。

図 35 に示すように、針葉樹の晩材部分の形状が早材部より丸いのが分かる。晩材部分の細胞は、早材部分の細胞よりも細胞間層が大きく、イオン液体との接触面積が大きい。そのため、木材細胞におけるより多くの形態学的変化をもたらした可能性が考えられる。

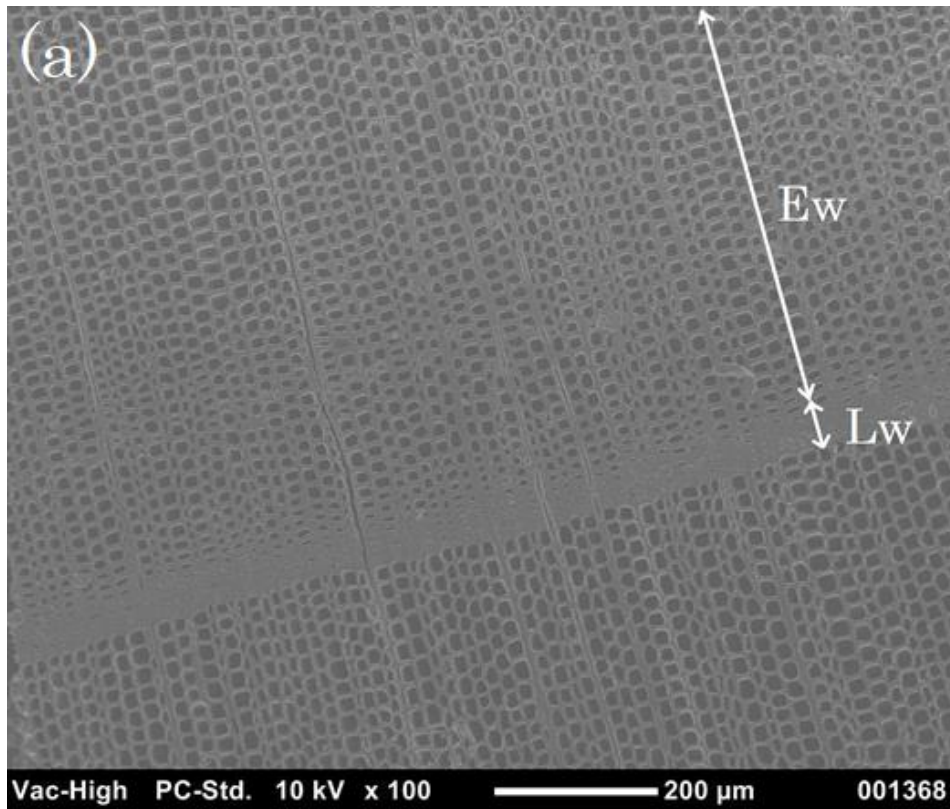
前処理条件としてエタノールで希釈した室温イオン液体 10 wt% で 10 分間の前処理をした SEM 観察では、樹種同定に深刻な形態変化をもたらさないことが分かった。

表 7 木材溶解のための処理条件

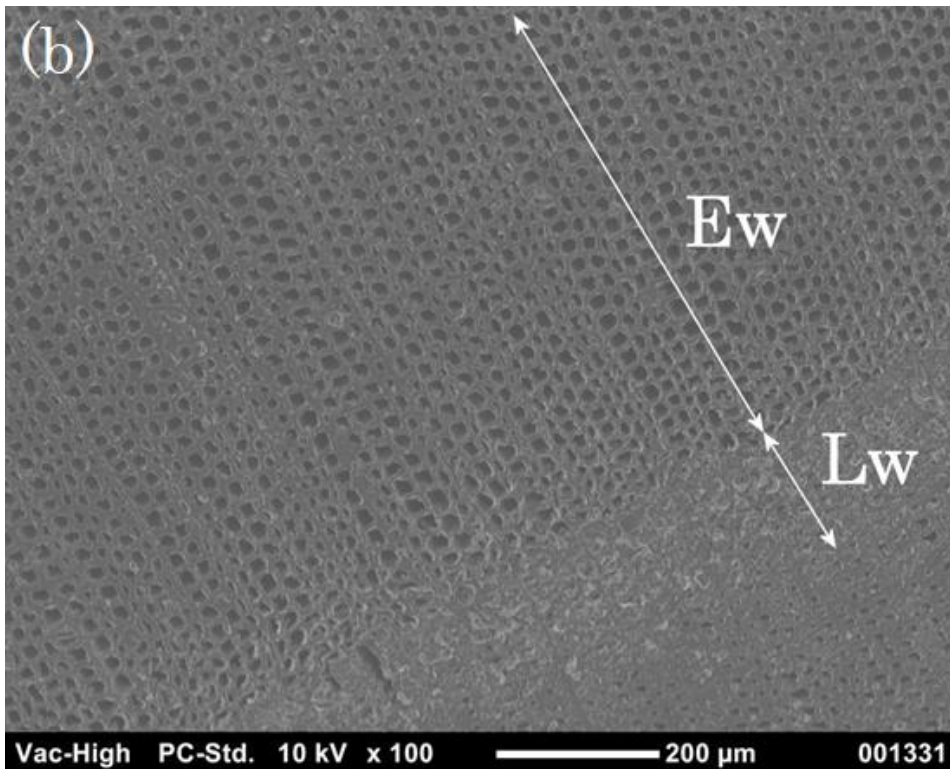
木材溶解のための処理条件	
標本名	スギ( <i>Cryptomeria japonica</i> )
イオン液体の種類	1-エチル-3-メチルイミダゾリウムメチルホスホネート
イオン液体濃度	100%
温度	室温(約 24°C)
前処理時間	3 時間

表 8 処理条件の比較

図 32 処理条件の比較図	(a)SEM 観察のための前処理	(b)木材溶解のための処理
標本名	スギ( <i>Cryptomeria japonica</i> )	スギ( <i>Cryptomeria japonica</i> )
イオン液体種類	1-エチル-3-メチルイミダゾリウムメチルホスホネート	1-エチル-3-メチルイミダゾリウムメチルホスホネート
イオン液体濃度	10 wt%	100 wt%
溶媒	エタノール	なし
温度	室温(24°C)	50°C
処理時間	約 10 分程度	3 時間



(a) SEM 観察のための前処理, 早材(Ew)と晩材(Lw)



(b)木材溶解のための処理, 早材(Ew)と晩材(Lw)

図 32 処理条件の比較図

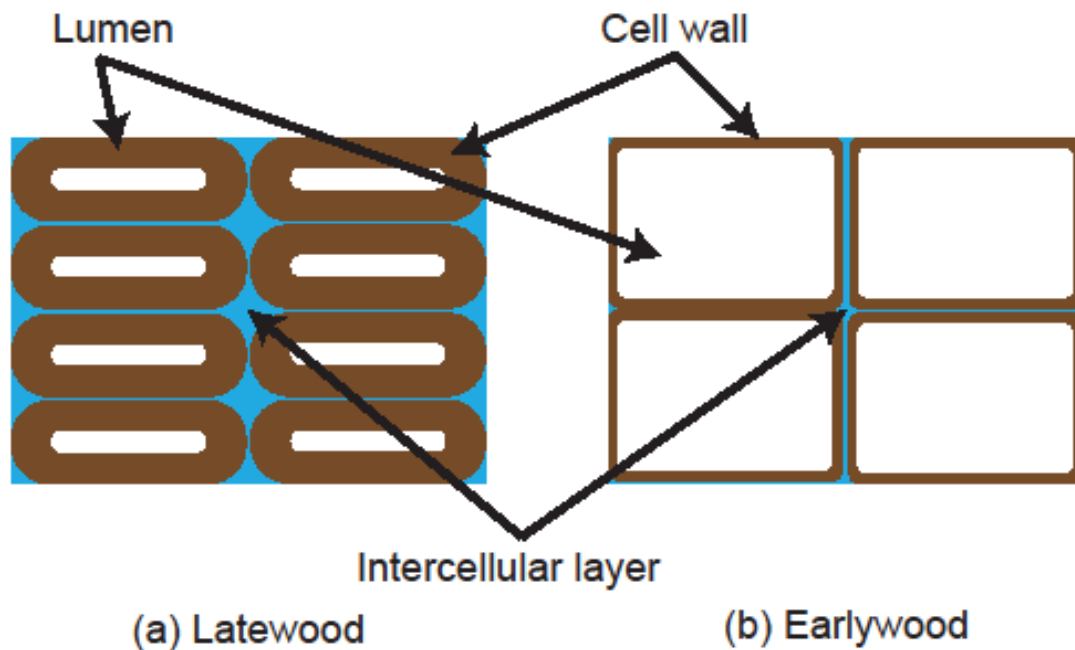


図 33 晩材部・早材部の模式図

## 5.9 まとめ

我々は、イオン液体(1-エチル-3-メチルイミダゾリウムメチルホスホネート)を用いて、現生材及び考古学的出土木材の SEM 観察のための新しい前処理方法を検討した。最適なイオン液体濃度は、エタノールを溶媒としたイオン液体 10 wt%の溶液がチャージアップを抑制し、SEM 画像として良好であることが、実験的に明らかとなった。典型的な針葉樹材と広葉樹材の標本の SEM 観察を行い、各木材の三断面から微細構造が十分に観察できることを示した。さらに、イオン液体を用いた前処理が考古学的出土木材(ca. 1600 年)の樹種を特定するための重大な微細構造の SEM 観察も可能であることを明らかにした。この前処理方法は、試料全面にイオン液体がコーティングされるため、従来の真空蒸着法よりもはるかに迅速かつ容易である。これらの前処理技術により、リアルタイムで考古学的出土木材の微細構造を SEM で提示するという新たな教育への適用方法が可能になる。SEM 観察のための前処理が木質構造の変形や破壊なしに観察できる理由は、バイオマス処理と異なる処理条件である。我々の前処理方法は、イオン液体濃度 10 wt%と低く、約 10 分間の短時間処理及び 24°Cの室温であるため、溶解が抑制される。一方、バイオマス処理では、原液のイオン液体で、48 時間の長時間処理及び、120°Cの高温であるため溶解が起こる。さらにバイオマス処理で晩材部だけが、溶解した理由として、仮道管の形状の違いが考えられる。すなわち針葉樹の晩材部は、早材部よりも仮道管の構造が丸いため、細胞間層の面積が大きくなる。それゆえ、晩材部の細胞間層にイオン液体の接触が起こりやすく破壊に繋がる。

## 第6章 SEMを用いた技術・工業教育で扱う工具の性能評価

### 6.1 はじめに

中学校技術又は工業高等学校の学習指導要領では、加工技術が設けられている<sup>23)</sup>。加工技術では、工具を損傷したり、材料や製品を無駄にしたり、怪我などの危険が伴うので、用途に応じた工具の原理や構造を学び、扱い方を学ぶ。その加工技術の工具の一つにかんな(鉋)がある。かんなは木材の表面を削って平滑にする役割があり、木工製作を行う上で欠かせないものである。しかし、どのように鋭利なかんな身刃先でも、木材の切削を続ければ次第に刃先が摩耗して、切れ味が低下する<sup>24)</sup>。よって、木材によるものづくり教育の実践において、工具や道具の維持管理は不可欠である。そのために、替え刃式工具、刃先研磨支援のための治具や試験方法が開発されてきた<sup>25)・29)</sup>。中学校技術又は工業高等学校の教師がかんな身刃先の切れ味を評価できなければ、刃物交換の時期を判定し、効果的かつ安全にかんな削りを行うことが困難である。また、木材切削工具の刃先の摩耗機構について様々な研究が行われてきた<sup>1)・28)</sup>。SEMを用いた表面の微細構造の観察により、これらの諸要因による摩耗の形態を系統的に分類できることが示されている。

これまでの刃物切れ味試験器の研究では、例えば糸に張力を与えておき、刃先を徐々に押し上げ、糸が切れたときの刃物の移動量から刃物の切れ味を評価する方式が開発されている<sup>27)</sup>。この方式では、寸法の微少な糸など点接触に近い刃先の切れ味を評価しており、任意の刃先線長さあたりの刃先の切れ味を評価していない。また、市販の切れ味試験器は高価であり、さらに、刃先を操作するなど安全性の観点から、学校教育における学習場面での利用を念頭において開発されていないので、授業実践への導入が難しいことが課題であった。中学校技術又は工業高等学校の教師が安全かつ簡便にかんな身刃先の切れ味を評価できるために、実習用の廃材を用いた教育用滑走式切れ味試験器を開発した<sup>32)</sup>。後述するように、この試験器は65°の斜面上に沿って割り箸を滑走させて、刃先に衝突させる。その際に、割り箸に刃先の進入痕が残るが、その進入痕の深さを測定することで刃先の切れ味を評価する。進入痕の深さを測定する際に、LED光源を装備したライトスケールルーペとデジタルカメラを併用することで、簡便な測定が行える。

そして、本試験器を用いて、かんな身の刃先を研ぐと切れ味が回復し進入痕の深さが増大することが示された<sup>32)</sup>。しかしながら、かんな身刃先の表面の微細構造までは詳細に観察されておらず、かんな身刃先の表面の状態と進入痕の深さに関する相関性は、確認できていない。開発した試験器の性能の妥当性を評価する上での留意点として、測定した進入痕の深さやばらつきの結果と、SEMなどの電子顕微鏡を用いた刃先の表面観察との比較が挙げられる。例えば、刃先が摩耗し、切れ味が劣化した場合には、本試験器で測定した進入痕は小さくなる。また一般的に、かんな身が鉄製であることから電子顕微鏡を用いると、摩耗した切削工具の刃先の表面には、チッピング(欠

け)や腐食等の物理的・化学的要因が前処理なしで観察される。

刃先の初期摩耗について山西・河合<sup>30)</sup>は、木材切削におけるかんな刃の初期摩耗形態についての研究を行い、研磨直後の刃先に残存する研ぎまくれや脱落した痕によって、刃先は初期状態においては最良の状態ではないことを示した。しかし実験では、SEMを用いた刃先の表面観察や摩耗による刃先後退量、刃先丸味幅は測定されているが、刃先の切れ味の定量評価は行われていない。そのため、刃先の切れ味と刃先の表面状態との相関性については検討されていない。

以上を踏まえて本研究では、この試験器の性能評価の一環として、かんな身刃先を詳細にSEMで観察し、刃先の切れ味の評価を行うことを目的とする。その際に、試験器を用いた進入痕深さの定量評価の結果と刃先の表面状態との相関性について比較・検討して、試験器を用いた刃先の切れ味評価の妥当性を検証した。授業実践での試験器の活用を想定して、特に、新品のかんな身を使用する前に研磨する効果や、学習者が刃先を研磨する場合における注意点について検討した。

## 6.2 実験で使用したかんな身について

表9に示すように、実験で使用した各々のかんな身をCase 0 からCase 4 に分類した。かんな身のCase 2~Case 4は、大学の授業での実習にて、主に木箱などの製作を行う際に使用されている。使用期間は10年程度で、概ね2年に1回の頻度で研磨が行われているものを選んだ。その際に、目視によって刃こぼれがあるかを確認した。表9のかんな身のCase 0~Case 4の状態を時系列で図36に示す。図34の $t1'-t1$ と $t2'-t2$ は、研磨時間である。

表9 実験で使用したかんな身

Case 0~4 の分類	
Case 0	新品のかんな身 (大学教員による再研磨有)
Case 1	新品のかんな身 (再研磨無)
Case 2	劣化したかんな身 (研磨無)
Case 3	劣化したかんな身 (大学教員による研磨有)
Case 4	劣化したかんな身 (学生による研磨)

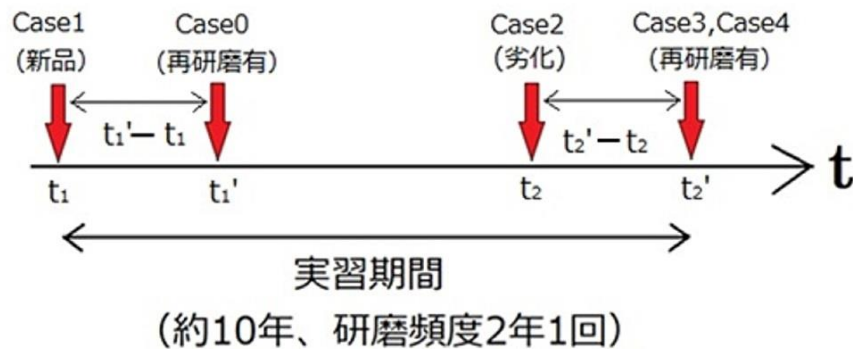


図 34 かな身の時系列

### 6.3 教育用滑走式刃先の切れ味試験器と実験条件

本実験で使用した切れ味試験器は、切削加工用工具刃先の切れ味を簡便に評価することを目的として、実習用廃棄材を用いて試作した滑走式切れ味試験器である(図 35)。固定されたかな身刃先に、斜面を滑走させた供試材を衝突させた際に生じる進入痕の深さを測定することで、刃先の切れ味を定量評価した。その際に、Case 0 の進入痕の深さを初期状態、又は基準とした場合の進入痕の深さの測定値の相対値をもって、切れ味の定量評価と定義した。

安全性の向上のため刃先を固定し、供試材を走行させる方式とした。この試験器の滑走する斜面の傾斜角度は、 $65^\circ$ に固定されており、滑走距離は 0mm から 120mm まで調整可能である。

切れ味試験器を使用した実験の手順は以下の通りである。(1) 供試材を供試材固定器(図 35(a))に固定した。(2) かな身を刃物固定器(図 37(b))に取り付けた。(3) 切れ味試験器の滑走レール端面のスリットを滑走レール設置台のフレームのぬきに合わせて静置し、滑走の傾斜角(図 37(c))を  $65^\circ$  に設定した。(4) 供試材固定器を滑走方向に力を加えることなく手放して、100mm ほど滑走させ、かな身刃先を供試材に進入させた(図 35(d))。

切削に関しては、木口切削の 90-90 切削と同じ方向で実験を行った。供試材として、身近に使用する木材である割り箸を用いた。割り箸の樹種はマツ類二葉松類 (*Pinus diploxylon* sp) である。進入痕の深さの測定には実体顕微鏡 SMZ18 (Nikon(株)社製)を用いた。



(a) 供試材固定器



(b) 刃物固定器



(c) 滑走の傾斜角の設定



(d) 滑走前

図 35 教育用滑走式刃先切れ味試験器



#### 6.4 SEM 観察のためのかんな身刃先の試料調整

図 36 のかんなの模式図に示すように、矢印で示されている刃先の SEM 観察を行った。その際に、刃先が少し大きいため SEM の試料台に載せることができない。そのため、図 36 に示すように、刃先を SEM の試料台に搭載可能な大きさ (縦横の一边が約 10mm) に切断した。供試工具の刃先の材種は、炭素工具鋼である。本実験では、SEM として JCM-5000 (日本電子(株)社製)を用いた。SEM 観察条件は、高真空で加速電圧は 5kV に設定した。倍率として、20 倍～2,000 倍の範囲で観察した。

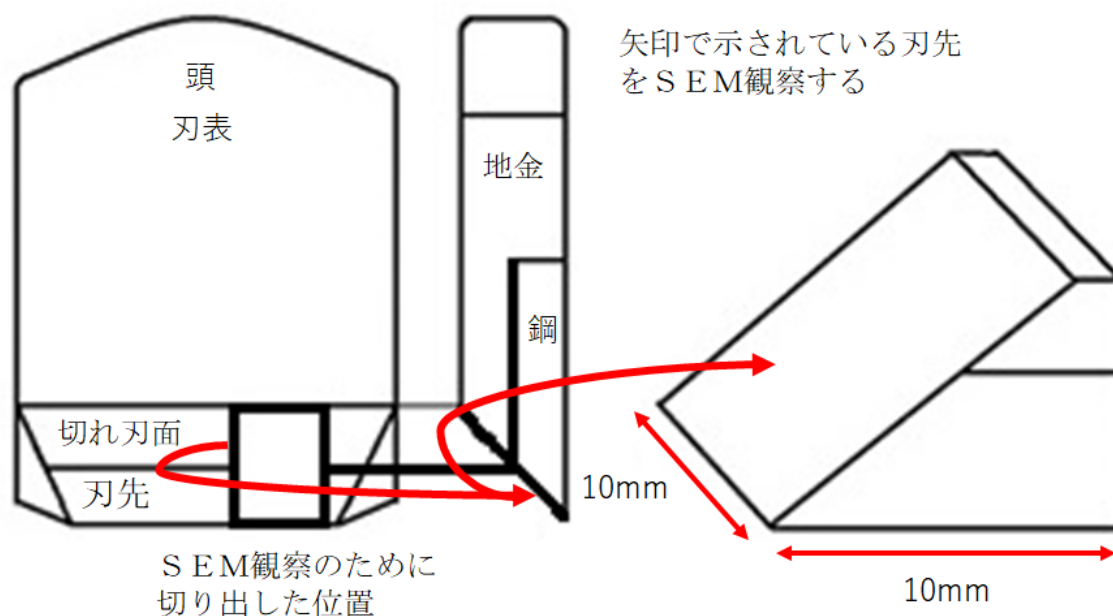


図 36 刃先の SEM 観察

## 6.5 刃先の切れ味の定量評価

図 37 に実体顕微鏡で観察された 5 種類のかんな身刃先の進入痕の様子を示す。図中に示されている矢印は、進入痕の深さを表している。各 Case 0～Case 4 の滑走試験の繰り返し回数は、15 回である。Case 0 や Case 1 の新品の刃先では、切屑生成形態の流れ型切屑<sup>40)</sup>に見られるような進入痕となるのに対して、Case 2 のように切れ味が劣化した刃先ではむしろ型切屑<sup>40)</sup>に見られるような進入痕が得られた。

図 38 に進入痕の深さの平均値と標準偏差を示す。まず、図 38 における平均値を比較すると、Case 0 と Case 1 及び Case 0 と Case 3 の進入痕の深さに違いが現れない。これは  $t$  検定において、5%の有意水準で棄却されない。

一方 5%の有意水準で、Case 0 と Case 2 及び Case 0 と Case 4 の進入痕の深さに違いが現れた。Case 0 と Case 2 の平均値の比較により、Case 2 では刃先の切れ味が劣化していることが言える。さらに Case 0 と Case 3 の平均値を比較することにより、切れ味の劣化した刃先は研磨により、切れ味が新品の状態まで回復することが分かる。また、Case 3 と Case 4 の平均値を比較することにより、Case 4 の方が進入痕の深さが小さく、研磨を施したにもかかわらず切れ味が回復していないことが示された。

次に、Case 0 と Case 1, Case 0 と Case 3 の間では、進入痕の深さの平均値は同程度であるが、ばらつきに大きな違いが見られる。Case 0 と Case 1 及び Case 0 と Case 3 について  $F$  検定を行い、それぞれ有意水準 5%で、進入痕のばらつきに違いがあることを確認した。通常、購入したかんな身刃先は使用する前に、Case 0 のように研磨することから、この研磨によって、刃先の切れ味のばらつきを抑制することが分かる。

また、Case 0 と Case 3 の比較から、研磨によって劣化した刃先は新品の状態まで切れ味は回復するが、場合によっては切れ味のばらつきが大きいため、交換する必要があることが示唆された。

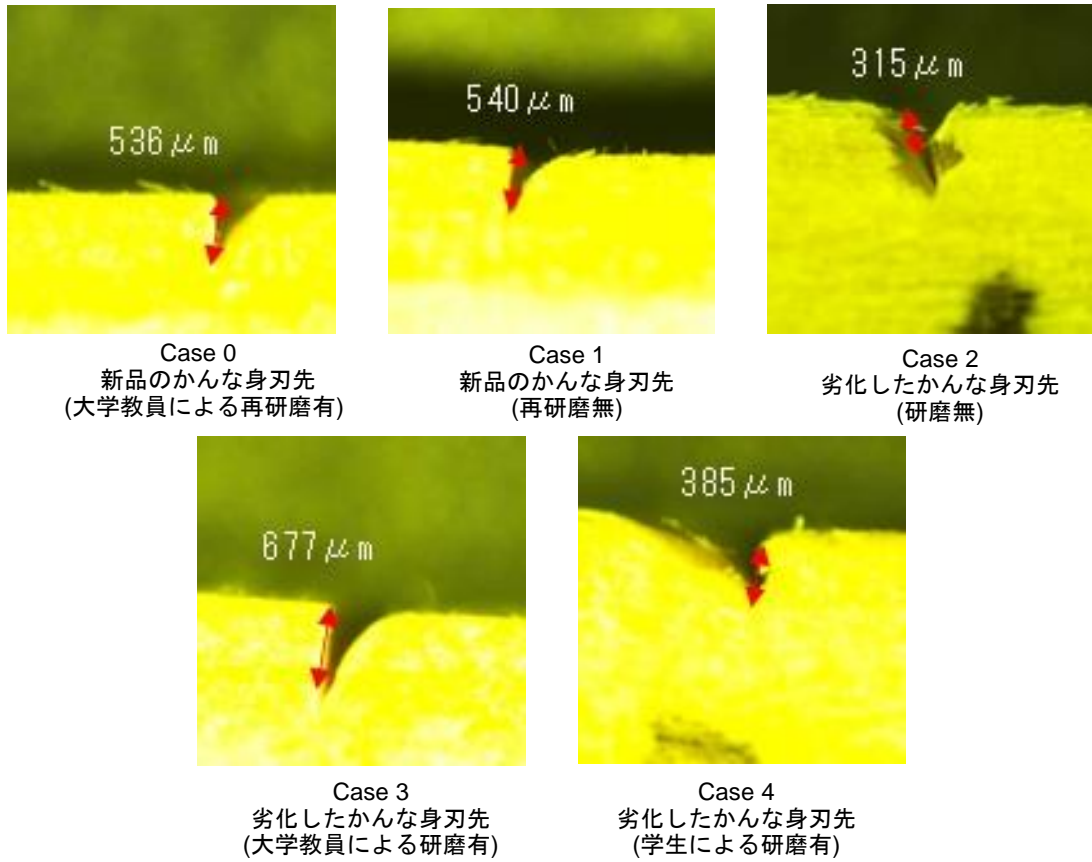


図 37 進入痕の形態

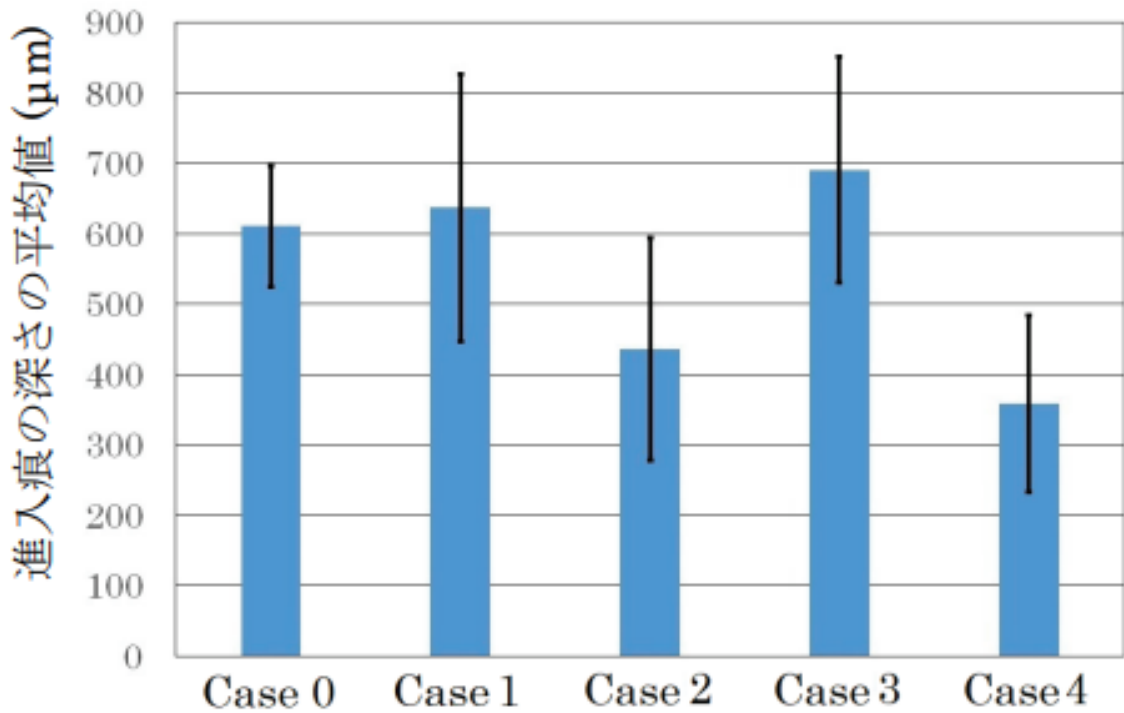


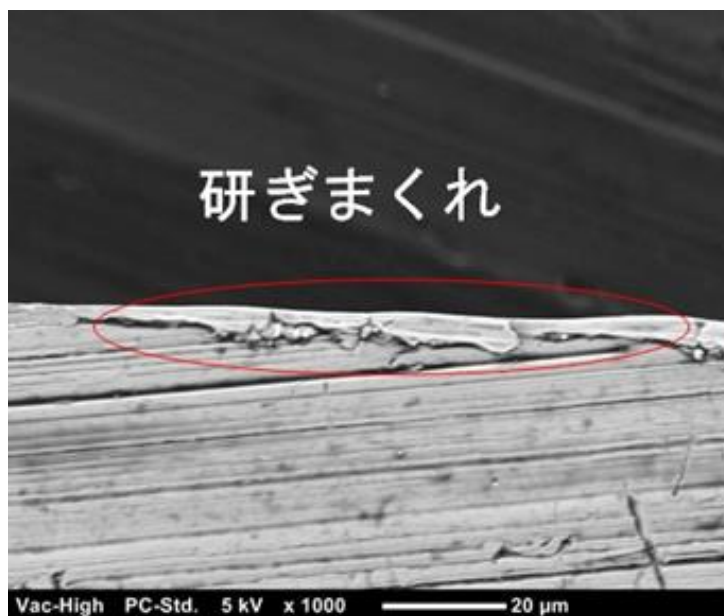
図 38 進入痕の深さの測定結果

## 6.6 新品かんな身刃先の SEM 観察

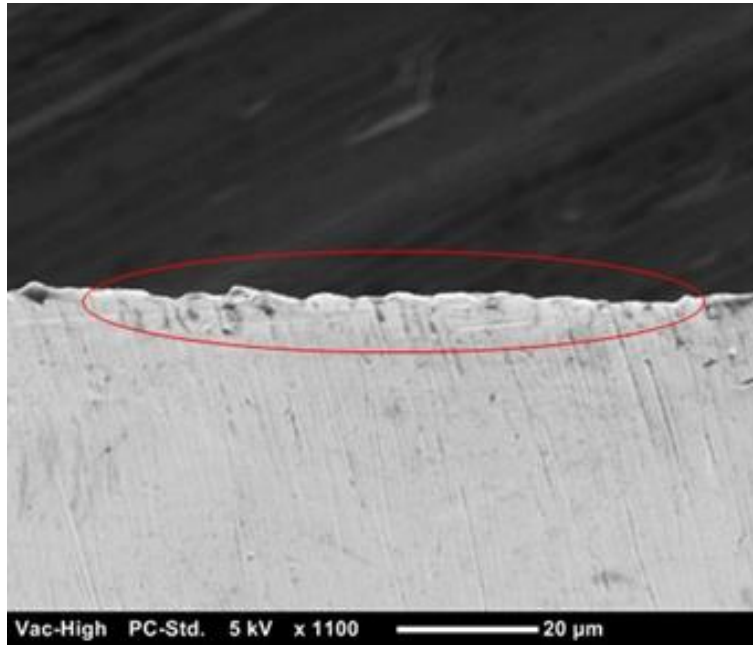
6.5 節で述べたように、新品のかんな身の Case 0 と Case 1 の進入痕の深さのばらつきに違いがあることが示された。この原因を探るために、かんな身刃先の表面の SEM 観察を行った。図 39 に Case 1 と Case 0 の刃先表面の比較図を示す。かんな身刃先の表面の SEM 画像から、Case 1 の刃先部分より研ぎまくれが見られる。一方、Case 0 では、新品のかんな身刃先を再研磨することで研ぎまくれを除去できる。それにより、進入痕の深さのばらつきを抑制することができるため手仕上げ研磨の効果が期待出来る。また、図 39(a) に示すように、量産されているかんな身の製造工程は、研ぎのみで出荷されており、返りが認められる。そのため、購入当初の新品は、手仕上げ研磨をすることの必要がある。

## 6.7 劣化したかんな身刃先の SEM 観察

図 40 は、劣化したかんな身刃先の(a)研磨無と(b)研磨有を比較した SEM 画像である。図 40(a)の劣化したかんな身刃先の表面には、摩耗などで起こるチップング(欠け)や腐食等の物理的・化学的要因が観察された。一方で、図 40(b)のように研磨を施すことで、チップングが取り除かれていることが観察された。図 38 の Case 2 と Case 3 の深さ進入痕の平均値の深さにも違いが現れているように、物理的要因としてチップングが進入痕の深さに影響を及ぼしていると考えられる。



(a) Case 1 (再研磨無)

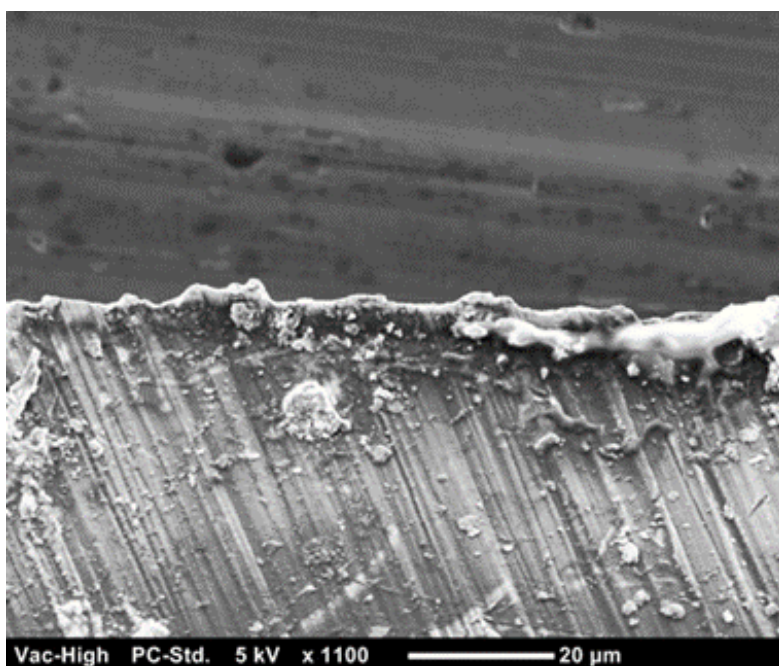


(b) Case 0 (再研磨有)

図 39 新品かんな身刃先の再研磨無／有での比較



(a) Case 2 (研磨無)

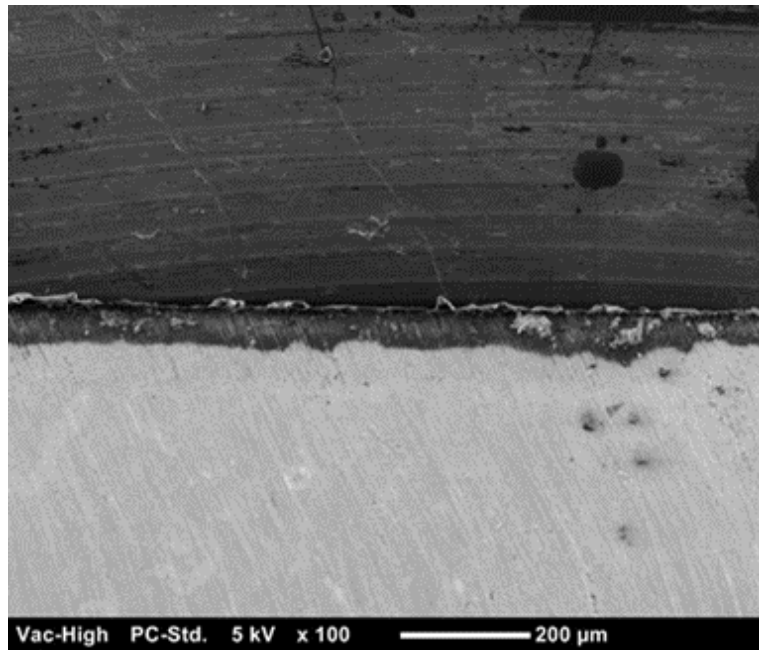


(b) Case 3 (研磨有)

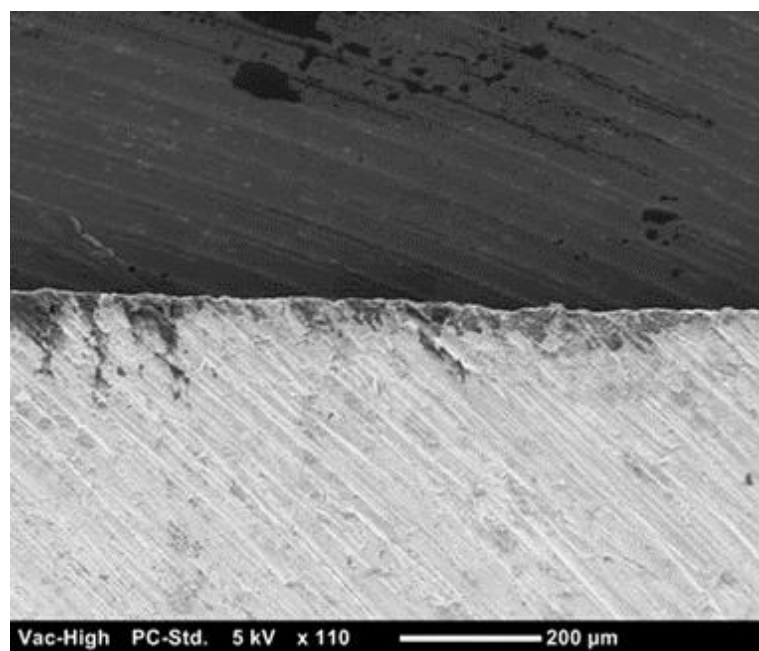
図 40 劣化したかんな身刃先の研磨無／有での比較

### 6.8 教員と学生が研磨したかんな身刃先の SEM 画像

図 41(a), (b)に大学教員と学生がそれぞれ研磨したかんな身刃先の SEM 画像を示す。図 41(a)では研磨痕がほとんど見られないのに対し、図 41(b)では研磨痕がはっきりとみられる。すなわち、学生による研磨は粗く、すくい面の摩擦が大きくなるため、切れ味が悪くなる。そのため図 38 に示すように、Case 4 の進入痕の深さは Case 3 に比べて小さい。また図 37 の Case 4 の進入痕の形態において、むしろ型切削痕に見られるように SEM 画像からも切れ味が悪いことが確認できる。



(a) 大学教員による研磨 (Case 2)



(b) 学生による研磨 (Case 4)

図 41 研磨後のかな身刃先の比較

## 6.9 まとめ

本研究では、開発した滑走式切れ味試験器の性能評価の一環として、かんな身刃先の表面状態を詳細に観察し、刃先の切れ味と相関性があるかを検討した。刃先の表面状態の観察には走査型電子顕微鏡(SEM)を用いた。また、試験器に取り付けた刃先に割り箸を衝突させて、その際に残る進入痕の深さを測定することで、切れ味の評価を行った。かんな身は、1) 新品のかんな身に研磨を行ったもの、2) 新品で研磨を行っていないもの、3) 長期にわたって使用されて研磨などの手入れを施していないもの、4) 長期にわたって使用されたかんな身を大学教員が研磨したもの、5) 長期にわたって使用されたかんな身を研磨経験がない学生が研磨したもの、の5種類を使用した。本実験で得られた結果を以下に示す。

1)かんなの刃先の切れ味について、試験器を用いた定量評価と SEM を用いた表面観察結果との間に、顕著な相関性が見られた。したがって、試験器を活用した刃先の切れ味評価は妥当であると考えられる。

2)新品のかんな身刃先は通常、使用する前に研磨する。この研磨によって、研ぎまくれを除去することで、刃先の切れ味のばらつきを抑制することを、切れ味試験評価と SEM で刃先の表面観察から確認できた。

初心者が刃先を研磨する際に、研磨は粗く、すくい面の摩擦が大きくなる。そのため、切れ味が悪くなり、研磨が不十分になり得ることが分かった。指導の際に注意を喚起する必要がある。

## 第7章 結言

第1章では、主に研究の背景と目的について述べ、本論文の構成を示した。

第2章では、イオン液体についての特徴・応用例について述べ、イオン液体の揮発性や難燃性、導電性を有していることや、医学・生物学分野でワカメやヒトの培養細胞などの SEM 観察の報告例を挙げた。さらに、他の分野への適応では、イオン液体を用いたバイオマスの処理は、リグニン及びセルロースの溶解を促進し、有望な処理技術であることを挙げた。

第3章では、生物試料の観察について、理科の教科書で頻繁に取り上げられているプランクトンを試料として、イオン液体を用いた前処理の方法について、エタノールを用いた最適なイオン液体の濃度を検討した。先行研究での前処理の方法と手順や、基材や溶媒が SEM 像に与える影響など最適化のパラメータを示した。また、エタノールを溶媒としたイオン液体 0.5-1.0 wt%の濃度が SEM 観察に適していると実験的に明らかにした。さらに、動物性と植物性プランクトンのイオン液体の最適濃度が異なることを示した。



第4章では、イオン液体を用いた前処理によるSEM観察のための学校教育への適用について述べ、先行研究で最適化されたイオン液体を用いた簡便な前処理方法によって生物試料の前処理から観察までの過程を実習で行った。また、事前事後のアンケート調査結果からも、前処理の必要性を通してSEMの原理・構造が体系的に学ぶと共に、高い生徒の理解度や興味・関心を持たせることが示された。

第5章では、木材のSEM観察のための低濃度及び室温のイオン液体の短時間前処理方法について述べ、経年劣化した木質文化材までの幅広い種類と年代の木材のSEM観察を行った。実験結果から、以下の4点を明らかにした。

- 1)イオン液体を用いた前処理により、原木や考古材の樹種同定に必要な細胞組織の損傷なく、簡便にSEM観察が行えることを示した。
- 2)最適なイオン液体濃度は、エタノールを溶媒としたイオン液体10wt%の溶液がチャージアップを抑制し、SEM画像として良好であることが、実験的に明らかとなった。
- 3)SEM観察のための前処理が木質構造の変形や破壊なしに観察できる理由は、バイオマス処理と異なる処理条件である。我々の前処理方法は、イオン液体濃度10wt%と低く、約10分間の短時間処理及び24℃の室温であるため、破壊が抑制される。一方、バイオマス処理では、原液のイオン液体で、48時間の長時間処理及び、120℃の高温であるため破壊が起こる。
- 4)バイオマス処理で晩材部だけが、破壊した理由に関して、仮道管の形状の違いが考えられる。針葉樹の晩材部は、早材部よりも仮道管の構造が丸いため、細胞間層の面積が大きくなる。それゆえ、晩材部の細胞間層にイオン液体の接触が起こりやすく溶解に繋がる。

第6章では、尾崎らが開発した滑走式刃先切れ味試験器を対象に、SEM観察による刃先の表面観察を行い、刃先の摩耗状態の評価を行った。その際に、試験器を用いた進入痕の深さからの切れ味評価との比較・検討を行うことで、尾崎らが開発した試験器の性能評価も行った。授業実践での試験器の活用を想定して、特に、新品のかんな身を使用する前に研磨する効果や、学習者が刃先を研磨する場合における注意点について検討した。

本研究を通して、簡便な前処理方法を用いることでSEM活用の様々な分野への貢献とSEM活用の様々な分野への貢献と適応範囲を広げた。この前処理方法を活用することにより、迅速にリアルタイムで試料作製が行えるためSEMの原理・構造が体系的に学べ、高い生徒の理解度や興味・関心を持たせることが示された。以上のように本研究を通して、SEMの学校教育への適用について新たな可能性を示すことができた。

## 引用文献

- 1) 福井尚：木材切削における工具切れ刃の摩耗現象，材料，第 30 巻，第 334 号 (1981) pp.646-656.
- 2) 鈴木武雄，柴田昌輝，田中和明，土田恵子，戸田龍樹：低真空走査型電子顕微鏡を利用したプランクトン観察のための新しい凍結乾燥法とその応用，日本プランクトン学会報，第 42 巻，第 1 号 (1995) pp. 53-62.
- 3) 高山晴義，松岡數充，福代康夫：わが国沿岸で採集された無殻鞭毛藻 *Gyrodinium aureolum* Hulburt の分類学的検討，日本プランクトン学会報，第 45 巻，第 1 号 (1998) pp. 9-19.
- 4) 小川 茂，五百川裕，大場孝信，渡辺隆：プランクトン観察授業における低真空走査型電子顕微鏡(LV SEM)の活用，上越教育大学研究紀要，第 19 巻，第 1 号 (1999) pp. 100-109.
- 5) 尾上孝利，塩田紀代美，足立裕亮：小学校の理科 教育における走査電子顕微鏡の教育効果，太成学 院大学紀要 (2014) pp.233-245.
- 6) 株式会社日立ハイテクノロジーズ：電子顕微鏡導入の岩沼小学校で講演授業を実施， [http://www.hitachi.co.jp/area/tohoku/portal/contribution/contribution/2119030\\_40436.html](http://www.hitachi.co.jp/area/tohoku/portal/contribution/contribution/2119030_40436.html) (2017 年 5 月 21 日閲覧)
- 7) 東栄科学産業・日本電子：電子顕微鏡で見える世界，実感して／東栄科学産業と日本電子が仙台二華で出前授業， <https://sciencecommunity.jp/%E9%9B%BB%E5%AD%90%E9%A1%95%E5%BE%AE%E9%8F%A1%E3%81%A7%E8%A6%8B%E3%81%88%E3%82%8B%E4%B8%96%E7%95%8C%E3%80%81%E5%AE%9F%E6%84%9F%E3%81%97%E3%81%A6%EF%BC%8F%E6%9D%B1%E6%A0%84%E7%A7%91%E5%AD%A6%E3%81%A8/> (2017 年 5 月 21 日閲覧)
- 8) 文部科学省：平成 28 年度科学技術白，特集ノーベル賞受賞を生み出した背景～これからも我が国からノーベル賞受賞者を輩出するために～2 [http://www.mext.go.jp/component/b\\_menu/other/\\_icsFiles/afieldfile/2016/05/26/1371168\\_001\\_2.pdf](http://www.mext.go.jp/component/b_menu/other/_icsFiles/afieldfile/2016/05/26/1371168_001_2.pdf), (2017 年 5 月 21 日閲覧)
- 9) 森山潤：技術教育における「学び」の構成から見た科学教育と連携可能性，日本科学教育学会誌，第 34 回年会論文集 (2010) pp63-64.
- 10) 新居浩・武市朋彦・伊藤陽介：干渉 SAR を用いた地形計測を題材とする理科・技術科教材，日本産業技術教育学会誌，第 57 巻，第 1 号 (2015) pp.1-10
- 11) 兵庫教育大学大学院連合学校教育学研究科共同研究プロジェクト(P)研究グループ：子どもが小さなエンジニアになる教室イノベーション力育成を図る中学校技術の授業デザイン，ジーアス教育新社 (2016) pp.26.
- 12) Tsuda T, Nemoto N, Kawakami K, Mochizuki E, Kishida S, Tajiri T, Kushibiki

- T, and Kuwabata S (2011) SEM observation of wet biological specimens pretreated with room-temperature ionic liquid. *Chem. Bio. Chem* 12: 2547–2550.
- 13) Gijyutu.com : おもしろ教材, 電子顕微鏡で見る木材 1 年間の歩み, <http://gijyutu.com/main/archives/993>, (2018 年 10 月 29 日閲覧)
- 14) 高田高校 SSH 通信(第 7 号), 電子顕微鏡を使ってみよう, 高田高等学校で実習授業を実施
- 15) Arimoto S, Sugimura M, Kageyama H, Torimoto T, and Kuwabata S (2008) Development of new techniques for scanning electron microscope observation using ionic liquid. *J. Electrochim. Acta.* 53: 6228–6234.
- 16) Tsuda T, Mochizuki E, Kishida S, Iwasaki K, Tsunashima K, and Kuwabata S (2014) SEM observation of hydrous superabsorbent polymer pretreated with room-temperature ionic liquids. *PLoS One* 9: e911193/1–e911193/7.
- 17) Yamashita T, Miyamoto K, and Yonenobu H. (2018) Short-time pretreatment of wood with lowconcentration and room-temperature ionic liquid for SEM observation, *Microscopy*.1–7.
- 18) Swatloski R P, Spear S K, Hobrey J D, and Rogers R D (2002) Dissolution of cellulose with ionic liquids. *J. Am. Chem. Soc.* 124: 4974–4975.
- 19) Endo T, Ei M A, Fujii S, Hosomi S, Kimizu M, Ninomiya K, and Takahashi K (2017) Investigation of accessibility and reactivity of cellulose pretreated by ionic liquid at high loading. *Carbohyd. Polym.* 176: 365–373.
- 20) Miyafuji H, and Suzuki N (2012) Morphological changes in sugi (*Cryptomeria japonica*) wood after treatment with the ionic liquid, 1-ethyl-3-methylimidazolium chloride. *J. Wood Sci.* 58: 222–230.
- 21) Kanbayashi T, and Miyafuji H (2013) Morphological changes of Japanese beech treated with the ionic liquid, 1-ethyl-3methylimidazolium chloride. *J. Wood Sci.* 59: 410–418.
- 22) Miyafuji H, and Suzuki N (2011) Observation by light microscope of sugi (*Cryptomeria japonica*) Treated with the ionic liquid, 1-ethyl3-methylimidazoliumchloride.*J.WoodSci.*57:459–461.
- 23) 文部科学省 : 平成 30 年度, 高等学校学習指導要領
- 24) 山下晃功・宮崎擴道・吉野毅・井上裕之・石丸進・番匠谷薫 : 技術研究選書木材の性質と加工, 開隆堂出版 (1993) pp.104-114.
- 25) 杉山滋 : 木材切削工具の切れ味測定と切れ味評価(XV), 長崎大学教育学部自然科学研究報告, Vol.4 (1992) pp.113-133.
- 26) 杉山滋 : 木材切削工具の切れ味測定と切れ味評価(I), 長崎大学教育学部自然科学研究報告, Vol.41 (1989) pp.95-123.

- 27) 中村源一・青山経雄：刃物の切れ味について，木材工業，Vol.9, No.4 (1954) p.168.
- 28) 小森純・林大九郎：刃先の切れ味試験方法について，木材工業，Vol.36, No.4 (1981) pp.173-175.
- 29) 河原淳夫・上田邦夫・岡村吉永：ベルトサンダによるかんな身刃の研磨，日本産業技術教育学会誌，第30巻，第3号 (1988) pp.275-278.
- 30) 山西謙三・河合康則：木材縦切削における鉋刃の初期摩耗形態について，日本産業技術教育学会誌，Vol.21, No.1 (1979) pp.103-106.
- 31) 倉田洋平：木質材料切削における被切削材と工具に関する研究，木材工業技術短信，第33巻，第1号 (2015) pp.1-12.
- 32) 花本一隆：光切断法を援用した切れ味試験の検討－教育用かんな刃に着目して－，平成30年度鳴門教育大学大学院修士論文 (2019)
- 33) 山下泰史，宮本賢治，尾崎 士郎，米延 仁志，斎藤 大義：滑走式切れ味試験器の性能評価を行うためのかんな身刃先の走査型電子顕微鏡観察，日本産業技術教育学会誌，Vol.63, No.2 (2021) pp.169-174.
- 34) 桑畑進：生産と技術，第63巻，第4号 (2011) p. 63-65.
- 35) 桑畑進：機能材料，第27巻，第10号 (2007) p. 6-12.
- 36) 桑畑進，島本司：表面技術，第59巻，第12号 (2008) p. 801-805.
- 37) Timothy C. R, Brennan・Supratim Datta・Harvey W. Blanch・Blake A. Simmons & Bradley M. Holmes (2010) Recovery of Sugars from Ionic Liquid Biomass Liquor by Solvent Extraction. Bioenerg.3:123–133.
- 38) Yamashita T, Miyamoto K, Ozaki S, and Yonenobu H (2015) Pretreatment of planktons with room-temperature ionic liquid for SEM observation. J. Electr. Microsc. Technol. Med. Biol. 29: 20–24.
- 39) 富田法貴：プランクトンのSEM観察に向けたイオン液体を用いた前処理方法の最適化，平成30年度鳴門教育大学大学院修士論文 (2016)
- 40) 番匠谷薫・奥村正悟・服部順昭・村瀬安英：木材科学講座6 切削加工(第2版)，海青社 (2007) p.16.  
[http://www.takadah.nein.ed.jp/pdf/ssh\\_tayori07.pdf#search=%27E9%9B%BB%E5%AD%90%E9%A1%95%E5%BE%AE%E9%8F%A1+%E3%83%97%E3%83%A9%E3%83%B3%E3%82%AF%E3%83%88%E3%83%B3+SSH%27](http://www.takadah.nein.ed.jp/pdf/ssh_tayori07.pdf#search=%27E9%9B%BB%E5%AD%90%E9%A1%95%E5%BE%AE%E9%8F%A1+%E3%83%97%E3%83%A9%E3%83%B3%E3%82%AF%E3%83%88%E3%83%B3+SSH%27)，(2018年10月29日閲覧)
- 41) 島地謙・伊東隆夫 (1982) 図説木材の組織，地球社

## 謝辞

本研究の博士論文をまとめるのにあたり、お世話になった先生方にお礼を申し上げます。鳴門教育大学の宮本賢治先生には、指導教員として懇切丁寧にご指導いただきました。研究テーマや研究方法についてご相談した折には、親身に話を聞いていただき、意義のある研究テーマを見出すことができました。研究中においても、論理の組み立てか方から、実験器具や参考資料の調達、分析依頼の方法まで、熱心にご指導していただきました。学会への論文投稿や国際発表、研究内容の再確認や、実験における問題解決を行う際には、深夜まで熱心にご指導ご教授していただきました。本研究が博士論文としてまとめられたのも、宮本賢治先生のご指導があったからこそ今があり、深く感謝しております。自然等2階の電気実験室の一部を私用として占有し、多くの関係する教授方、学生さんには、大変感謝しております。本当にありがとうございました。

また、岡山大学の平田晴路先生からは、イオン液体や木材組織、技術教育についての有益なコメントならびに研究内容に関わる貴重なご示唆をいただきました。心よりお礼申し上げます。さらに、鳴門教育大学の宮下晃一先生からも有意義なディスカッション等を通して研究の方向性や意義、技術教育との関わりなど、多面的な研究内容のご指導いただき誠にありがとうございました。鳴門教育大学の西川和孝先生と胸組虎胤先生には、細部にわたって論文の修正や貴重なご助言をしていただきまして大変感謝申し上げます。

最後に私の研究の過程で最も重要である木材の標本提供を鳴門教育大学の米延仁志先生からして頂いたことを大変感謝しております。また、研究では、丸一日実験に費やすような日が何週間もあり、そういった中でも米延先生の貴重な時間を割いて長時間研究に付き添っていただきました。さらに、知識の乏しい私でも理解できるように確なご指導をして頂いたおかげで、本研究をひとつの区切りとして終了させることができました。米延仁志先生には、木材を観察するための試料作製や論文投稿する際の英文の添削など、多面的な場面で助けて頂き大変感謝しております。この場を借りて、お礼申し上げます。