

色素とタンパク質を用いた高校生課題研究の実践報告

松浦 紀之 (奈良女子大学附属中等教育学校)

あらまし

タンパク質からなる繊維である絹と羊毛をブロモフェノールブルーで染色すると、異なる色に染め分けできる。この反応の解明をめざした生徒研究およびこの反応を応用して溶液中のタンパク質定量に取り組んだ生徒研究について紹介する。

キーワード

ブロモクレゾールパープル ブロモフェノールブルー 絹 羊毛 染色 タンパク質 定量 課題研究

1. はじめに

授業として行う課題研究や理科クラブで行う研究では、生徒自らが研究テーマを設定することが大切である。著者は生徒が行う科学研究において、先輩から後輩への研究の継続性を持たせつつ、取り組む生徒の希望を考慮したテーマ設定とその研究の指導を行った。著者が指導した生徒は、pH 指示薬であるブロモクレゾールパープル (BCP) を用いて絹と羊毛を染色すると、これら2種類の繊維が異なる色に染着されることを見出した。さらに、この反応を用いることで、様々な繊維を鑑別する方法を確立させることができた¹⁾。この研究からヒントを得た生徒が、自ら継続・発展させた研究2例について紹介する。

2. 絹と羊毛の染色性の比較実験²⁾

染色実験は学校教育で取り上げられることが多く、教材化も多く報告されている³⁾。動物繊維である絹や羊毛は、いずれもタンパク質からなり、染料の染着性は似ている。そのため染色法による判別は難しい。

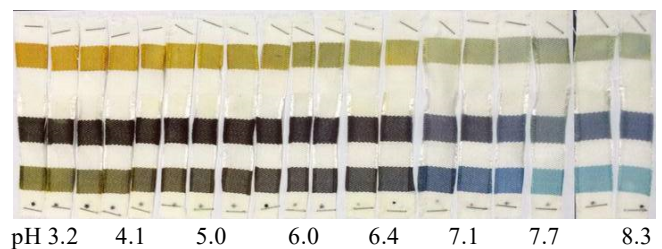
本研究は、動物繊維をBCPで染色すると異なる色に染まる現象について、染色メカニズムを染料と繊維の分子構造の違いから考察したものである。

(1) 方法

BCPのメタノール-水溶液を調整した (BCP溶液)。フラスコに、様々なpHの緩衝液とBCP溶液を入れ、多織交織布⁴⁾を浸し、水浴中で10分間沸騰させた。多織交織布を取り出し、水で洗浄した後乾かし、染色の程度を観察した。

(2) 結果と考察

染色実験の結果、BCPは羊毛や絹、ナイロンには染まったが、他の繊維には染まりにくかった。BCP溶液のpHの違いにより染色された繊維の色には違いがみられた。絹はpH 3.2のとき橙色でpH 8.3のとき緑色、羊毛はpH 3.2のとき濃緑色でpH 8.3のとき青緑色に染色され、対応するpHのBCP溶液の色とは異なる色に染色された (図1)。



pH 3.2 4.1 5.0 6.0 6.4 7.1 7.7 8.3

図1. 染色実験の結果 (pH3.2~8.3の緩衝溶液中で染色, 上よりポリエステル, 絹, アクリル, レーヨン, 羊毛, アセテート, ナイロン, 綿)

BCPは溶液のpHの違いにより分子構造が変化し、溶液の色も変化する (図2)。羊毛と絹はともにタンパク質からなる天然繊維であり、このタンパク質に含まれる官能基は異なる (文献によると、繊維1kgあたり絹; $-\text{NH}_3^+$ 0.15, $-\text{COOH}$ 0.29, $-\text{NHCO}-$ 0.77 mol, 羊毛; $-\text{NH}_3^+$ 0.80, $-\text{COOH}$ 0.77, $-\text{NHCO}-$ 0.82 mol)⁵⁾。これより絹は相対的に負の電荷を、羊毛は正の電荷を帯びやすくなる (等電点 (文献値), 絹; pH3.8~4.7, 羊毛; pH4.9)。染料と繊維との静電的な引力により、絹には黄色のBCPが、羊毛には青色のBCPが染着されたと考えられる。

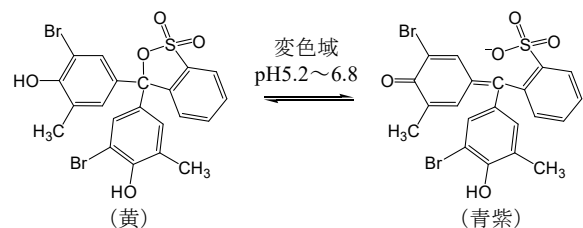


図2. BCPのpHによる構造変化

3. 水中のタンパク質の定量法への応用⁶⁾

タンパク質と色素分子との結合を利用したタンパク質の分析方法は、色素結合法と呼ばれ、生物やバイオ分野で利用されている^{7,8)}。この方法を利用することで、河川水中に存在するタンパク質の定量ができるのではないかと考えた。環境調査

の対象となる池や河川には、様々なタンパク質が含まれる。そこでタンパク質と色素が反応するかを確認する実験を行った。

(1) 方法

試験管に緩衝溶液 (pH 2.6~7.0 の 12 種類), 1.0×10^{-4} mol/L の色素溶液, 5000 ppm のアルブミン水溶液を入れてよく攪拌した。室温で 20 分間放置したあと, 分光光度計を用いて 300~700 nm の範囲の吸収スペクトルを測定した。比較のため, アルブミン水溶液のかわりに純水を用いて同様の操作を行った。

検量線の作成: 試験管に pH 2.6 緩衝溶液, 1.0×10^{-4} mol/L ブロモフェノールブルー (BPB) 溶液, 様々な濃度のアルブミン水溶液 (0~5000 ppm) を加えて混合した。室温で 20 分間放置したあと, 610 nm の吸光度を測定した。アルブミン溶液の濃度と 610 nm の吸光度の関係をグラフにして, 検量線を作成した。

(2) 結果と考察

BCP と類似の骨格構造を持つ BPB について, BPB のみの溶液とアルブミンを加えた溶液の吸収スペクトルを比較すると, スペクトルの形は大きく異なっており, 溶液の色の変化も見られた。pH 2.6 条件下の 610 nm の吸光度の変化が最も大きいことも分かった。

pH 2.6 条件下でアルブミン濃度と溶液の 610 nm における吸光度の関係をグラフにした (図 3)。アルブミン濃度が 0~500 ppm までの範囲で, 直線的な吸光度の増加が見られた ($R^2 = 0.999$)。この直線を検量線として利用することで, 溶液中のタンパク質の定量分析が可能となることが分かった。

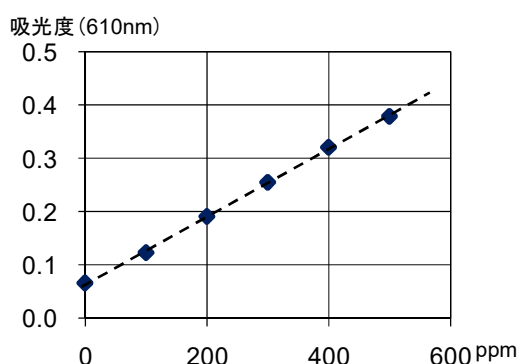


図 3. アルブミン濃度 (横軸) と 610nm の吸光度 (縦軸) の関係。

4. 生徒研究の完成度

2 の研究は, 2 名のチーム研究で研究期間は約 10 ヶ月である。染料分子と繊維の分子との間に化学結合(クーロン力やファンデルワールス力など)が働くと, 繊維は染色される。染色メカニズムの

説明を丁寧に行うために, 研究後半に見られた目標迷失期や停滞期に指導者がアドバイスを行った。

3 の研究は 1 名の研究で, 研究期間は約 7 ヶ月である。生徒は当初から河川水中の汚染物質の定量に興味を持っており, 本研究では洗剤の影響についてもあわせて検討することができた。この生徒は研究する中で, 自ら問題を見つけて解決する力が鍛えられた。

5. まとめ

タンパク質や色素は, 高校化学の教科書にも掲載され, 生徒にとって親しみやすいテーマである。報告した例は, 先輩の研究をヒントに生徒自ら発展させた研究であり, 志向が異なる 2 つの研究へと展開することができた。

生徒研究のテーマについて, 「課題の設定には, 探究型課題研究の過程で, 最も困難なものであるが, 課題を設定する力の育成は非常に重要であるため, 教員の助言のもとで, 基本的には生徒に行わせる」と言われている⁹⁾。生徒が持つ資質や能力を活用して研究活動を行い, 理解を深めさせ, もっと知りたいと思えるような指導を行ってきたい。

なお, 2 つの生徒研究の詳細については, 参考文献をご覧頂きたい。

〔参考文献等〕

- 1) 西崎, 増田, 大野, 第 9 回高校化学グランドコンテンツ要旨集, 2012.
- 2) 松浦紀之, 化学と教育, 2017, 65, pp. 242-245.
- 3) 例えば, 左巻健男, たのしくわかる化学実験辞典, 東京書籍, 1996, p.372
- 4) 横糸にポリエステル, 縦糸に綿, ナイロン, アセテート, 羊毛, レーヨン, アクリル, 絹, ポリエステルを織り込まれたものである。ナリカより購入可能であり, JIS の交織 1 号と同一のものである。
- 5) 長津勝治, 実用染色法浸編, 丸善, 1954.
- 6) 松浦紀之, 松浦紀之, 日本理科学協会研究紀要, 2019, 50(印刷中)
- 7) 森山達也, バイオ実験で失敗しない! 検出と定量のコツ, 羊土社, 2005.
- 8) 長沼健, 前田健太, 愛知教育大学研究報告 2005, 54, 55.
- 9) 高等学校と大学との接続を踏まえた科学系人材育成のためのスーパーサイエンスハイスクール事業の在り方について(提言), 世界にはばたく人材育成のための SSH プログラム研究協議会, 2014.