

G5-04

分析機器の基本的な概念・原理を示す 模型を用いた化学の指導方法に関する研究

—高速液体クロマトグラフを用いた実験を通して—

研究の概要

生徒にとってブラックボックスである高性能な分析機器のうち、当センターにある高速液体クロマトグラフを取り上げ、その概念・原理を理解することを支援する模型を製作した。実験の過程に高速液体クロマトグラフによる分析データの利用を位置付けた探究的な活動において、製作した模型を活用することによって、生徒は分析操作に意欲的に取り組み、実験に対する達成感を得やすくなると同時に分析機器の有効性を実感することにつながるということが実践を通して分かった。

キーワード

高等学校化学, 高速液体クロマトグラフ, 模型, 基本的な概念・原理, 科学と人間生活

目	次
I はじめに	
II 研究の目的 ……………1	2 吸光光度法の基本的な原理の理解を 支援する教具の製作……………6
III 研究の内容 ……………1	(1) 教具の製作……………6
1 高速液体クロマトグラフの概念・ 原理の理解を支援する模型の製作 …1	(2) 教具の使用方法和結果の例……………8
(1) 高速液体クロマトグラフの構成と 模型の構成との比較 ……………1	3 高速液体クロマトグラフとその模型 を用いた化学の学習指導……………9
(2) 模型の製作と各部の使用方法和 …3	(1) 実践事例1 ……………9
(3) 模型の使用方法和結果の例 ……5	(2) 実践事例2 ……………11
	IV 成果と課題 ……………13
	V おわりに ……………15

岡山県総合教育センター
指導主事 米田 直生

分析機器の基本的な概念・原理を示す モデルを用いた化学の指導方法に関する研究

幼稚園、小学校、中学校、高等学校及び特別支援学校の 学習指導要領の改善について(答申) －高等学校理科における課題と改善の具体的事項－

《課題》

★生徒が理科を学ぶ意義や有用性を実感していない

《改善の具体的事項のポイント》

- ★探究的な活動の重視
- ★中学校理科の学習成果を踏まえ自然科学の複数の領域を学習
- ★科学に対する関心をもち続ける態度を育成
- ★生徒の能力・適性等に応じて深く学び、自然を探究する能力や態度の育成

高性能な分析機器(高速液体クロマトグラフ)による分析データの利用

ブラックボックス

模型の製作

模型の活用

基本的な概念・原理を説明

高速液体クロマトグラフの基本的な概念・原理の理解

実践(高速液体クロマトグラフを使った探究的な活動)を通して得た研究の成果

- 分析操作の意欲的な取り組み
- 実験に達成感
- 分析機器の有効性の実感

分析機器の基本的な概念・原理を示す 模型を用いた化学の指導方法に関する研究

—高速液体クロマトグラフを用いた実験を通して—

I はじめに

平成20年1月に中央教育審議会から出された「幼稚園、小学校、中学校、高等学校及び特別支援学校の学習指導要領等の改善について（答申）」（以下「答申」という。）では、高等学校教育課程実施調査、PISAやTIMSS調査などの国内外の様々な調査から、生徒が理科を学ぶ意義や有用性を実感していないことが課題として示された¹⁾。これらの課題を踏まえた、高等学校理科における改善の具体的事項のポイントは、「探究的な活動を重視する」「中学校理科の学習成果を踏まえ自然科学の複数の領域を学習する」「科学に対する関心をもち続ける態度を育成する」「生徒の能力・適性等に応じて深く学び、自然を探究する能力や態度を高める」の4点である²⁾。

化学においては自然への興味・関心を喚起し、探究心を高めるために、これまでも物質の性質や物質の変化について様々な観察、実験が行われているが、高性能な分析機器による分析データを用いることにより、更に多様な観察、実験などの探究的な活動が可能となる。しかし、先端の科学技術を取り入れた最近の高性能な分析機器は、その多くがコンピュータによって分析条件のパラメータの設定、分析の開始・停止だけでなく、データの解析まで制御、自動化されており、そのような分析機器をそのまま利用するだけでは、生徒にとって観察、実験が一連のものと認識されずに、達成感を得にくくなってしまうことが考えられる。

そこで本研究では、岡山県総合教育センターに設置されている高速液体クロマトグラフについて、その基本的な概念・原理の理解を支援する模型を製作し、その模型を用いた化学の指導方法について授業実践を通して提案することとした。

模型を通して、生徒が高速液体クロマトグラフの仕組みやそこに使われている分析方法の概念・原理について理解できれば、生徒にとって本来の意味で自然を探究する有効な方法の一つとして高速液体クロマトグラフを利用することになる。このことによって、探究的な活動において、分析操作に意欲的に取り組み、一連の探究活動として達成感をしたり、将来様々な観察、実験を計画したりすることが期待できる。併せて、分析機器の有用性を実感することで、科学技術が日常生活や社会を豊かにしていることや安全性の向上に役立っていることを認識できる利点もあると考えた。

II 研究の目的

生徒にとってブラックボックスである高性能な分析機器のうち、当センターにある高速液体クロマトグラフを取り上げ、その概念・原理を理解することを支援する模型を製作する。実験の過程に高速液体クロマトグラフによる分析データの利用を位置付けた探究的な活動において、製作した模型を活用することによって、生徒は分析操作に意欲的に取り組み、実験に対する達成感を得やすくなると同時に分析機器の有効性を実感することにつながるということを実践を通して提案する。

III 研究の内容

1 高速液体クロマトグラフの概念・原理の理解を支援する模型の製作

(1) 高速液体クロマトグラフの構成と模型の構成との比較

高速液体クロマトグラフの構成は、**図1**のように送液部、試料注入部、カラム部、検出部に大きく分けることができる。このことを踏まえて今回製作した模型の構成を**図2**に示す。

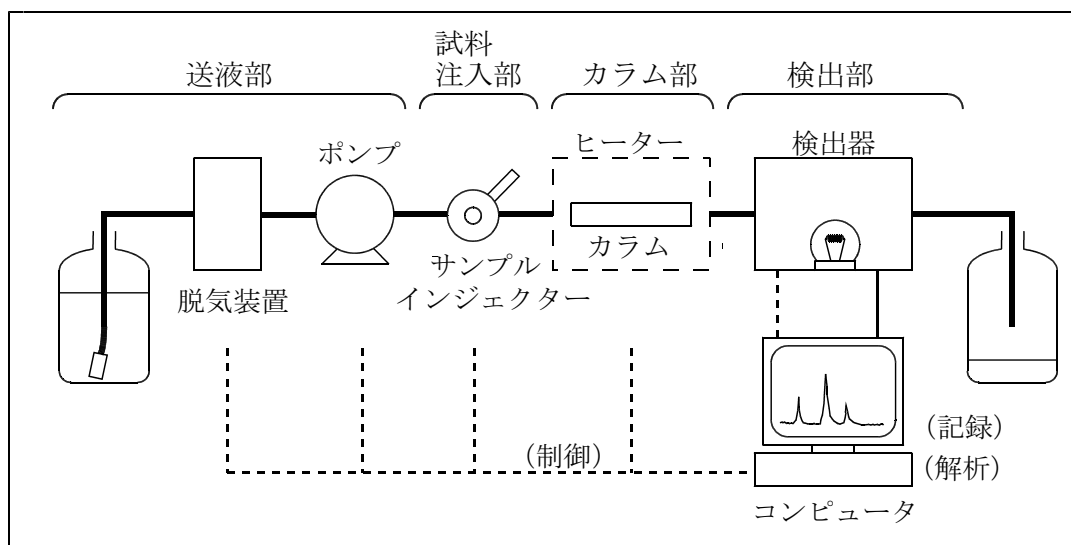


図1 高速液体クロマトグラフの構成

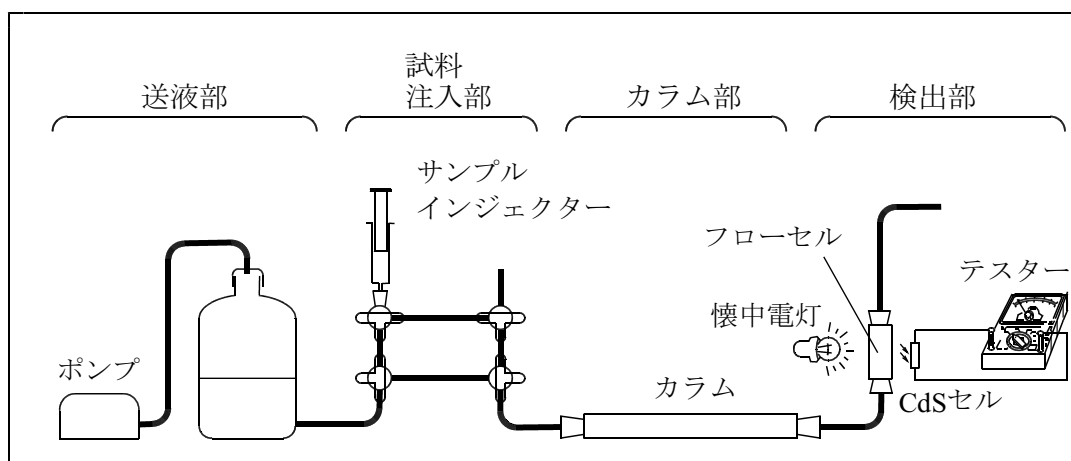


図2 模型の構成

ア 送液部

高速液体クロマトグラフではプランジャポンプがよく用いられているが、模型ではエアポンプでペットボトル内の気体の圧力を大きくすることで液体の水を流し出すポンプを使った。ペットボトルの上部は圧力によって膨らみ、適度な緩衝作用を持ちながら、強い送液力が得られる。これは、フラッシュクロマトグラフの論文を参考にして考案した³⁾。

イ 試料注入部

レバーを回転させるという一つの動作で6か所のポートの流れ方を変える仕組みを持つサンプルインジェクターが多く用いられているが、模型では、以前の当センターの研究で考案されたもので、医療現場の点滴などで用いられる三方活栓を4個を用いるものを採用した⁴⁾。複数の三方活栓を適切に切り替える必要があるが、実物と原理は同じであり、サンプルループも存在する。したがって、注入量を常に一定に保つことや注入量の変更方法についても説明することができ、実際の高速液体クロマトグラフのサンプルインジェクターの仕組みを理解しやすい。

ウ カラム部

高速液体クロマトグラフではステンレスの管の中に樹脂が充填されているものが一般的である。したがって、たとえ有色の物質でもカラムによって、混合物から純物質に分離されていく様

子を直接見ることはできない。そこで模型では、内径10mmのガラス管にイオンクロマトグラフ用のシリカゲルを充填した。高速液体クロマトグラフでは充填剤としてシリカゲルにオクタデシルシリル基を結合させたODSシリカがよく使われるが、シリカゲルと比べて高価である。シリカゲルは、高等学校の化学の内容として学習するということから、比較的安価であることから、今回の模型に使うことにした。なお、緑色の食用色素（食用黄色4号と食用青色1号の混合物）であれば、今回用いたシリカゲルで十分満足できる分離ができた。

エ 検出部

高速液体クロマトグラフでは、分析する目的物質に応じて吸光度だけでなく電気伝導度や屈折率の測定を行う様々な検出器が利用される。当センターの高速液体クロマトグラフの検出器は光検出素子としてフォトダイオードアレイを採用した最新の検出器（PDA紫外可視検出器）であり、あらかじめ波長を指定しなくても常時190nm～800nmの全波長における吸光度を測定し、データをコンピュータが記録している。そのため、後から任意の波長のピークを表示させることができ、何回でもデータを再解析することができる。

高速液体クロマトグラフにおいて、最も一般的な検出器である吸光度（もしくは透過率）を測定するタイプを想定して模型を製作した。模型を単純化するために光源として懐中電灯を用いた。懐中電灯とCdSセルの間にフローセルとして内径7mmのガラス管を置き、フローセル内の溶液を通過した光の強さに応じて、CdSセルが抵抗値として溶液の濃さを数値化する仕組みである。フローセルに有色の溶液が入り、次第に濃くなると抵抗値が大きくなっていく。

実物の検出器では、白色光がプリズムなどで分光され、特定の波長の光（試料の最大吸収波長など）で試料に当てられる。このとき、試料を通過した透過光の強弱で試料の濃度を定量するという吸光度法と呼ばれる分析概念の一つが使われている。そこで、光の波長と個々の物質が持つ光を吸収する性質との関係についての実感を持った理解のために、高速液体クロマトグラフの模型とは別に教具を製作した。この教具については次項2で紹介するが、生徒の理解度に応じて、高速液体クロマトグラフの模型に加えて利用すると効果的である。

(2) 模型の製作と各部の使用方法

今回製作した模型の全体を図3に示す。左前から、エアープンプ、移動相だめ、サンプルインジェクターと続き、中央にカラム、一番右側に検出部（懐中電灯、フローセル、CdSセル）が配置されている。中央に立てかけている機器はテスターで、検出部にあるCdSセルの抵抗値を表示する。一番奥のペットボトルは廃液だめであり、検出部から出る溶液とサンプルループをオーバーフローした溶液を受ける。

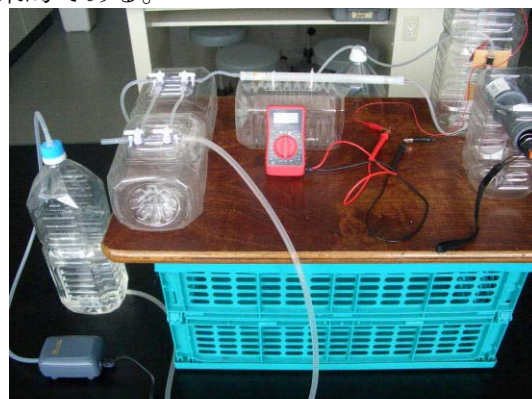


図3 高速液体クロマトグラフの模型

ア 材料

表1は、模型の製作に必要な材料の一覧である。

表1 模型の材料

三方活栓（ロータリー型）……………4	エアープンプ……………1
ガラス管（内径10mm，長さ20cm）…1	ルーアーフィッティング……………約10
ガラス管（内径7mm，長さ3cm）…1	懐中電灯……………1
CdSセル……………1	シリカゲル60（70～230mesh）…適量
テスター……………1	角形ペットボトル……………適量
シリコンゴムチューブ……………適量	結束バンド……………適量
（内径2mm，内径4mm）	

三方活栓とルアーフィッティングは、様々なサイズや形状のものが市販されている。用途や使用するシリコンゴムチューブの内径に応じて、適切なものを選ぶ。

イ 移動相だめ

内径4mmのシリコンゴムチューブ用のルアーフィッティングのサイズに合わせて、ペットボトルの側面の下部に穴を開け、水が漏れないように接着剤で固定する。同様に、ペットボトルのふたの中央部にルアーフィッティングのサイズに合わせて穴を開け、空気が漏れないように接着剤で固定する。ペットボトルに水を半分程度入れ、エアポンプとふたの方のルアーフィッティングを内径4mmのシリコンゴムチューブでつなぐ。エアポンプを作動させるとペットボトル内の上部の空気が加圧され、下部のルアーフィッティングから水が押し出される。

ウ サンプルインジェクター

三方活栓4個とシリコンゴムチューブを、ルアーフィッティングを適宜用いて図4のようにつなぎ、結束バンドを使ってペットボトルに固定する。シリコンゴムチューブは、移動相だめとサンプルインジェクターの間には内径4mmのものを用い、他はすべて内径2mmのものを用いる。試料注入量はシリコンゴムチューブでできたサンプルループの長さを変えることで調節できる。



図4 サンプルインジェクター

使用方法を図5に示す。順序よく三方活栓のレバーを操作することで、流れを止めずに移動相の間に一定量の試料溶液を注入することができる。図4は、図5の「試料充填完了」時を示しており、図4左上の注射器からサンプルループに試料溶液（緑色）が充填されている。このように、余分な試料溶液が少しだけ廃液だめへ続く右上のルートへ入る程度の量を注射器から注入して用いる。

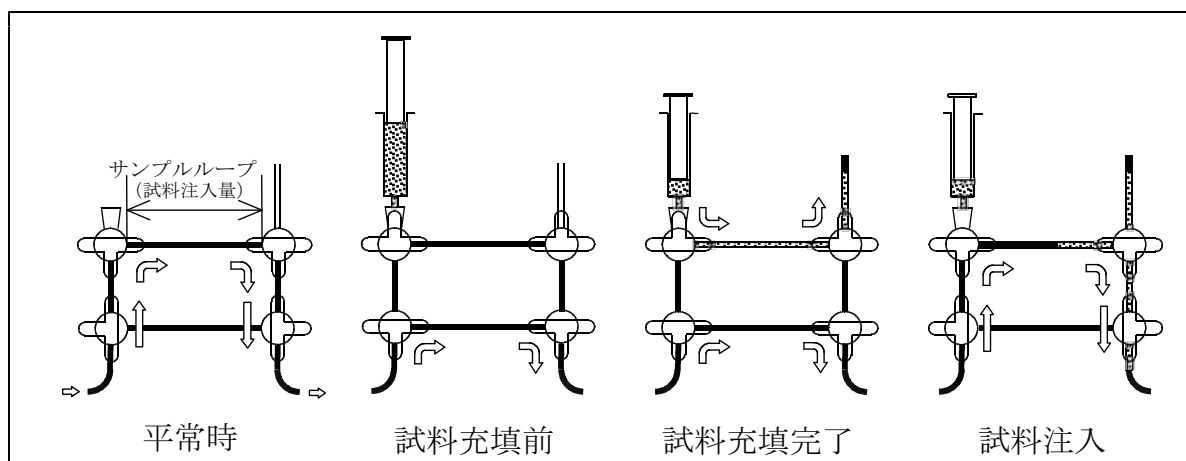


図5 サンプルインジェクターの使用方法

エ カラム

内径10mm、長さ20cmのガラス管の中に、シリカゲル（70～230mesh）を脱脂綿で挟む形で充填し、ガラス管の両端にルアーフィッティングを差し込んだゴム栓を付けることで、液体を通すことを可能にした。カラムに用いるガラス管の内径や長さ、また、カラムの充填剤の種類などをいろいろと変えてみることも興味深い。

オ 検出器

検出器は、更に図6のように左側から順に、発光部、フローセル、受光部からできている。発光部と受光部のそれぞれのハウジングとして、今回はペットボトルを使用した。木などその他の

素材でも構わないが、無色透明であるため模型の周囲どこからでも構造を見ることができる利点がある。

また、発光部と受光部は一体化せず、別々に作り、固定しない方が望ましい。それぞれの仕組みを個々に手に取って説明しやすいとともに、光源と受光部の距離を変えてC d Sセルの抵抗値の変化を示すことができる。また、フローセル内の気泡を取り除くために、向きを自由に動かすことができることも利点である。

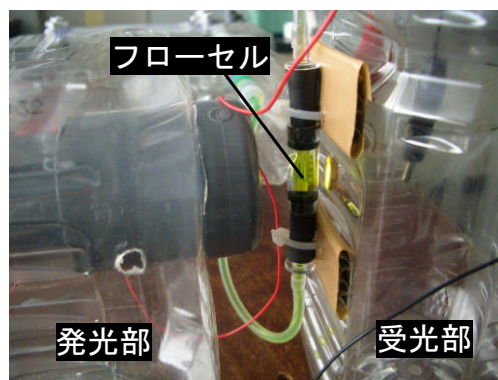


図6 検出器

(7) 発光部

用いる懐中電灯のサイズに合わせて筒（水道管やラップの芯などを利用）とペットボトルを使って製作した。

懐中電灯の光は、小さな穴を開けた板でさえぎることで、スポットライトとなるようにした。なお、照射する光の高さは受光部のセンサーとなるC d Sセルの高さと同じにする必要がある。

(イ) フローセル

内径7mm、長さ3cmのガラス管の両端に、ルアーフィッティングを差し込んだゴム栓を取り付けフローセルとする。これを結束バンドを使って、C d Sセルを埋め込んだペットボトルに縦方向に固定する。実際的高速液体クロマトグラフでは、試料溶液の分散を防ぐためにフローセルの容積は小さく作られているが、この模型では高速液体クロマトグラフの概念・原理の理解を支援することを目的としているので、周りから見やすくするためにC d Sセル全体を覆うことができる太いガラス管を用いた。

(ウ) 受光部

懐中電灯の光と同じ高さになるように、C d Sセルをペットボトルに取り付ける。C d Sセルはテスターに接続し、テスターを抵抗値を測定するモードにして常時表示させる。

(3) 模型の使用方法和結果の例

ア 試料溶液

市販の緑色の食用色素（食用黄色4号と食用青色1号の混合物）の水溶液を用いた。模型は試料溶液を定量する目的ではないので濃度は任意でよいが、デンプンなど水に溶けにくい物質も加えられているため、ろ過をして水に不溶の物質を取り除いた。試料溶液として、緑色の食用色素を用いることには、次のような利点がある。

- ・身近にある食料品売場で入手しやすい。
- ・2種類の純物質が含まれており、あらかじめ純物質を混合させる必要がない。
- ・食用色素本来の用途からも、水溶液の色が鮮やかできれいであり、分離が確認しやすい。
- ・緑色の純物質であると思いやすく、黄色と青色に分離されたときにインパクトが大きい。
- ・食品に添加する合成着色料であるため、安全であり、しかも廃液の処理が容易である。

イ 操作手順

(ア) ポンプのスイッチを入れ、すべての経路を水で満たす。特にフローセル内に気泡がある場合は、フローセルの向きを変えたり、振動を与えたりして気泡を取り除く。

(イ) フローセルに無色透明の水が流れているときに示す、C d Sセルの抵抗値を確認しておく。

(ウ) 図5に従って、試料溶液をサンプルループに充填した後、注入する。図5において上側2個の三方活栓と下側2個の三方活栓をセットにして、流れを考えながらセットである2個の三方活栓を同時に切り替えていくと良い。

(エ) カラムによって試料が分離されていく様子を観察する。

(オ) フローセルに有色の液体が通過し始めたあたりから、C d Sセルが示す抵抗値の変化をみる。

ウ 結果

図7は、試料溶液を注入して3分が経過したときのカラムの様子である。試料溶液の緑色が、カラムによって黄色と青色の純物質に分けられ、順にフローセルへと流れていくことが観察できる。検出部では、フローセル内の無色の水が、有色の溶液に次第に置き換わっていくにつれて、光の透過率が低下し抵抗値が上昇していくことが確認できる。約10分で、すべての経路が再び水で無色となった。

廃液だめをメスシリンダーに替えて単位時間当たりの液量を測定し、流速を調べたところ、1.8mL/minであった。

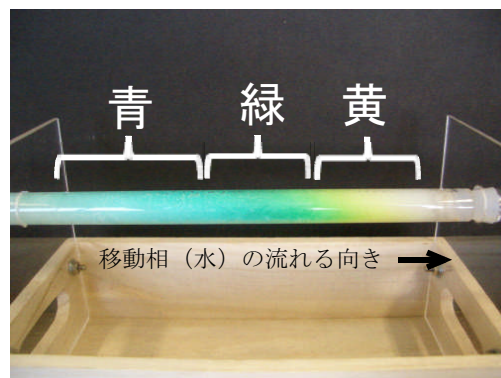


図7 カラムの様子

2 吸光光度法の基本的な原理の理解を支援する教具の製作

今回製作した教具を図8に示す。黒色の塩ビパイプ4本のそれぞれに、緑色、黄色、赤色の高輝度発光ダイオードが管の内部に向けて備え付けてあり、スイッチの切り替えでいずれか一色を4個同時に点灯させることができる。また、発光ダイオードのちょうど反対の塩ビパイプの側面には直径8mmの穴が開けてあり、その穴からパイプの中に差し込んだ試験管中の有色の溶液を通過する光の強さを、目で見ることができるようになっている。

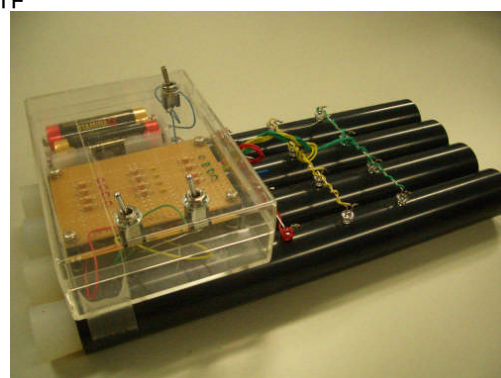


図8 吸光光度法を説明するための教具

(1) 教具の製作

ア 材料

表2は、教具の製作に必要な材料の一覧である。この他、教具の使用時には塩ビパイプ用の5号のシリコンゴム栓8個及び試料溶液を入れる試験管（外径18mm、長さ18cm）4本と試験管用に4号のシリコンゴム栓4個が必要である。

表2 教具の材料

高輝度発光ダイオード（緑，黄，赤）… 各4	抵抗（330Ω）…………… 12
スイッチ…………… 3	プリント基板…………… 1
単三型乾電池ホルダー（2本用）…………… 1	スチロールケース…………… 1
スペーサ…………… 4	塩ビ製水道管（内径20mm，長さ1m）… 1
塩ビパイプ用接着剤…………… 1	塩ビ絶縁電線，スズめつき線…………… 適量

イ 塩ビパイプの加工

まず直径20mmの塩ビパイプを、長さが217mmになるように4本に切る。この長さは、パイプの中に4号のゴム栓をした試験管（外径18mm、長さ18cm）を入れ、両端から5号のゴム栓をしたときに、試験管が中で動かないように考慮したものである。

4本すべての塩ビパイプを図9のように、前面に直径8.0mm、背面には直径4.9mmの穴を電動ドリルで開ける。前面の穴は試料を通過してくる発光ダイオードの光を肉眼で観察する窓であり、背面の穴は発光ダイオード（直径5.0mm）を取り付けるためのものである。前面と背面の穴の中心は、前面から見たときに必ず一致させる必要があるため、1回目の電動ドリルの作業で、まず2mm程度の細いドリルの刃でパイプを貫通させてから、改めて直径8.0mm、4.9mmの穴を開けると良い。

次に、穴を開けた塩ビパイプ4本を水平な台の上でそろえて並べ、側面に塩ビパイプ用の接着剤を塗って接着する。このとき、パイプに開けた大小の穴の中心が、鉛直向きに一致していることが大切である。

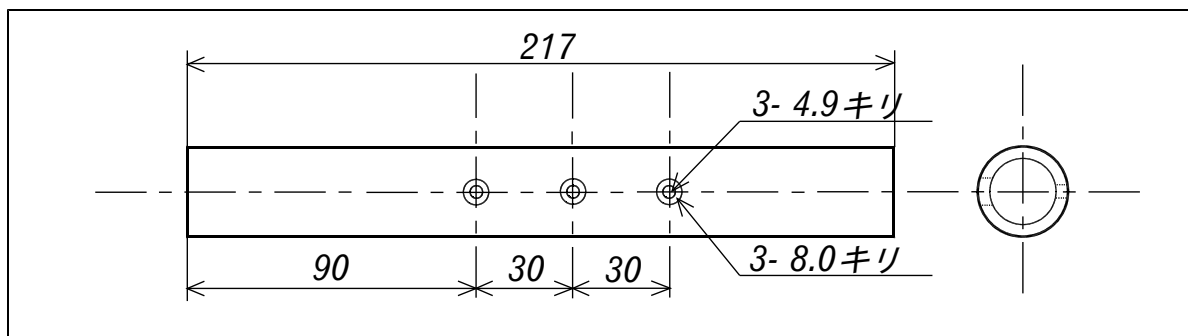


図9 塩ビパイプの切削

ウ 回路

スイッチの切り替えにより、発光ダイオードの色（緑色，黄色，赤色）を選択し，同色4個の発光ダイオードが同じ明るさで光るように図10のように配線を行う。用途から考えるとスイッチはロータリースイッチ1個を用いると良いが，高価であるため両切りタンブラスイッチ2個で代用した。なお，回路図中の抵抗はすべて330Ωである。

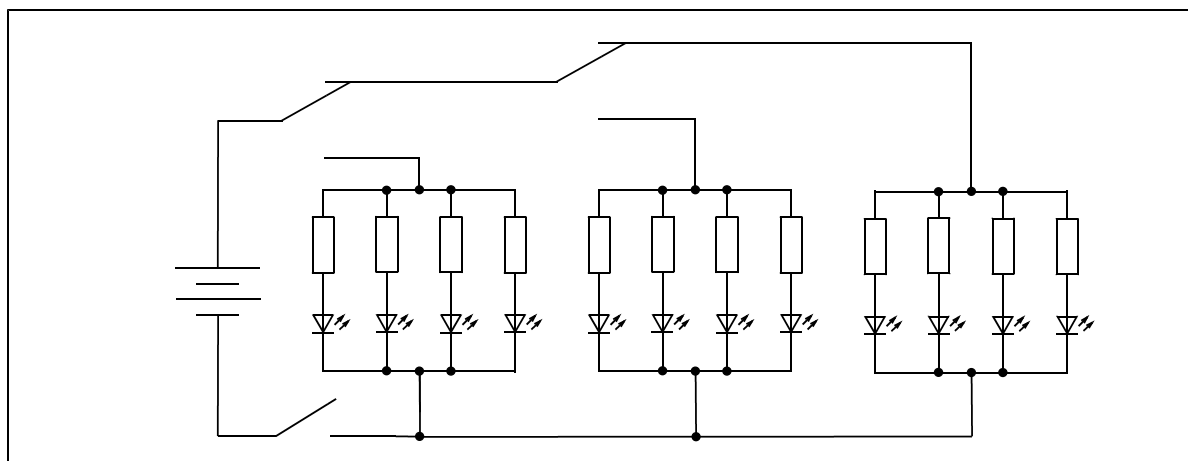


図10 回路図

エ 組立て

図11のように緑色，黄色，赤色の各4個の発光ダイオードを塩ビパイプの4.9mmの穴に横一列が同色になるように押し込む。発光ダイオードの径が5.0mmであるため，特に接着剤は必要としない。

次に図10に従って，プリント基板上に抵抗器を配置し，発光ダイオードの色に合わせた塩ビ絶縁電線の被膜の色（緑色，黄色，赤色）を使って，抵抗の両端を電池の正極と発光ダイオードの長い方の足にそれぞれつなぐ。一方，スズめっき線を使って電池の負極とすべての発光ダイオードの短い方の足をつなぐ。

図12のようにプリント基板はスペーサを用いてスチロールケースに取り付け，スイッチ3個及び乾電池ホ

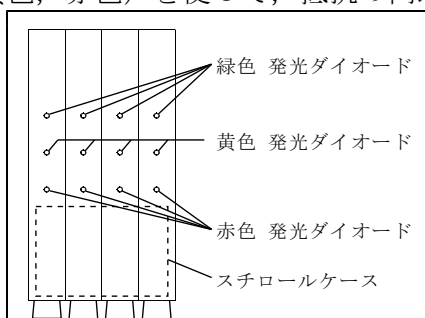


図11 教具の模式図



図12 スチロールケース

ルダーはスチロールケースに直接固定する。

スチロールケースは、電池交換などでケースを再び開ける必要もあるため、図11の破線部（発光ダイオード側）にテープを使って塩ビパイプに固定する。無色透明のケースを使うことで、生徒が教具の配線を見ることができ、仕組みを理解することができる。

(2) 教具の使用方法和結果の例

ア 操作

(ア) 緑色の食用色素0.5gを水100gに加えてよくかき混ぜた後、ろ過する。得られた溶液を2倍、4倍、8倍と希釈し、4種類の異なる濃度の溶液をつくる。これらを試験管（外径18mm、長さ18cm）にほぼ一杯に入れ、ゴム栓をする。

(イ) 5号のシリコンゴム栓を各塩ビパイプの下側の口に強めに取り付け、図13のように、教具の塩ビパイプの中へ、濃度の異なる溶液を入れた試験管を生徒の目の前で順に入れる。

(ウ) 試験管を完全に塩ビパイプの中へ差し込み、落下防止のために、塩ビパイプの下側の口と同様に、上側の口にも5号のゴム栓を取り付ける。

(エ) 生徒の側から発光ダイオードの光が観察できるように教具を持ち、順次色を切り替えて、色の違いによる透過光の大きさの違い（まぶしさの度合いの違い）や色などを観察させる。ただし、発光ダイオードの光で目を痛めることがないように、あらかじめ適切な明るさになるように試料溶液の濃度を検討し、観察させる距離や時間などにも十分配慮する必要がある。



図13 試料の差し込み

イ 結果

図14に発光ダイオードの透過光を示す。緑色の発光ダイオードの光では、試料溶液の濃度にかかわらずほぼ同じ明るさに見えるのに対し、光を黄色、赤色に切り替えると、通過する光の強さに大きな違いが生じている。したがって、この緑色の試料溶液に対しては、緑色の光は適さず、黄色や赤色の光であれば分析できるということが分かる。特に赤色の光を用いれば、更に低濃度の試料溶液でも濃度の違いが識別できるということも推測できる。このような観察により、吸光度法において、個々の物質が持つ最大吸収波長の光を照射して透過率を調べることに大きな利点があるということも、実感を持って理解することができる。

また別件であるが、図14の黄色の発光ダイオードの結果には、興味深いことが観察できる。黄色の発光ダイオードを点灯させているにもかかわらず、右側2本の塩ビパイプの透過光は緑色をしていることである。これは使用している黄色の発光ダイオードの光に、緑色の光が含まれているということである。この現象から、緑色に見えるものは、白色光から緑色以外の光を吸収して、緑色を反射したり、透過したりするということが確認できる。ただし、実際の検出器では、完全に分光され、単一波長の光が照射されるため、この教具のような現象は起こらない。

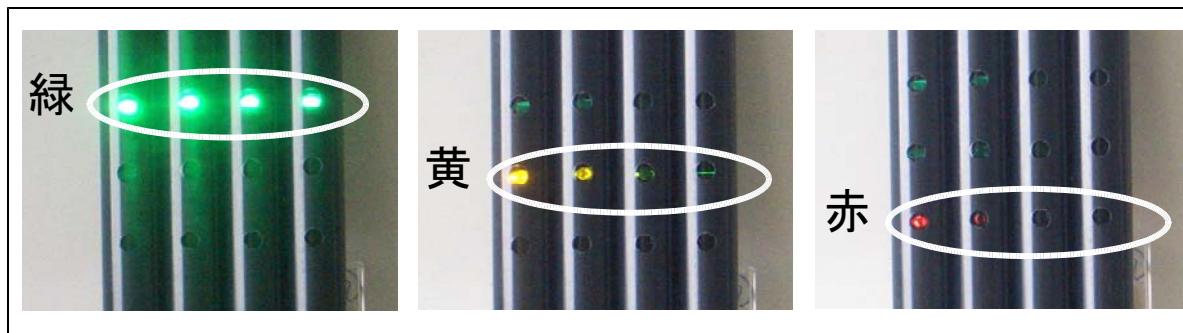


図14 緑色の試料溶液を用いた観察結果（左から緑、黄、赤色の発光ダイオードを点灯）

3 高速液体クロマトグラフとその模型を用いた化学の学習指導

(1) 実践事例 1

実践事例 1 では、A 高等学校の普通科第 3 学年の生徒 6 名を対象に、課外学習活動「高速液体クロマトグラフを用いた飲料中に含まれるカフェインの定量」を当センターで実施した。今回製作した模型を活用することによって、生徒が高速液体クロマトグラフの概念・原理を簡単に理解し、その後の高速液体クロマトグラフの分析操作に意欲的に取り組み、実験に対して達成感を得るということをねらいとした。

ア 学習活動の流れ（所要時間 3 時間）

(ア) 高速液体クロマトグラフの模型と教具を用いた、次の項目の説明を受ける（図15）。

- ・ 高速液体クロマトグラフ全体の構成
- ・ ポンプ、サンプルインジェクター、カラム、検出部
- ・ 吸光光度法の原理に基づいた、試料と光の波長の関係

(イ) 図16のように、高速液体クロマトグラフ（島津製作所製ポンプLC-20AT，カラムオーブンCTO-10ASVP，検出器SPD-M20A，レオサイン製サンプルインジェクター7725i）を用いて、各部の説明を受け、模型と比較したり、模型での説明を想起したりしながら、分析機器の概念・原理を理解する。



図15 模型を用いた説明

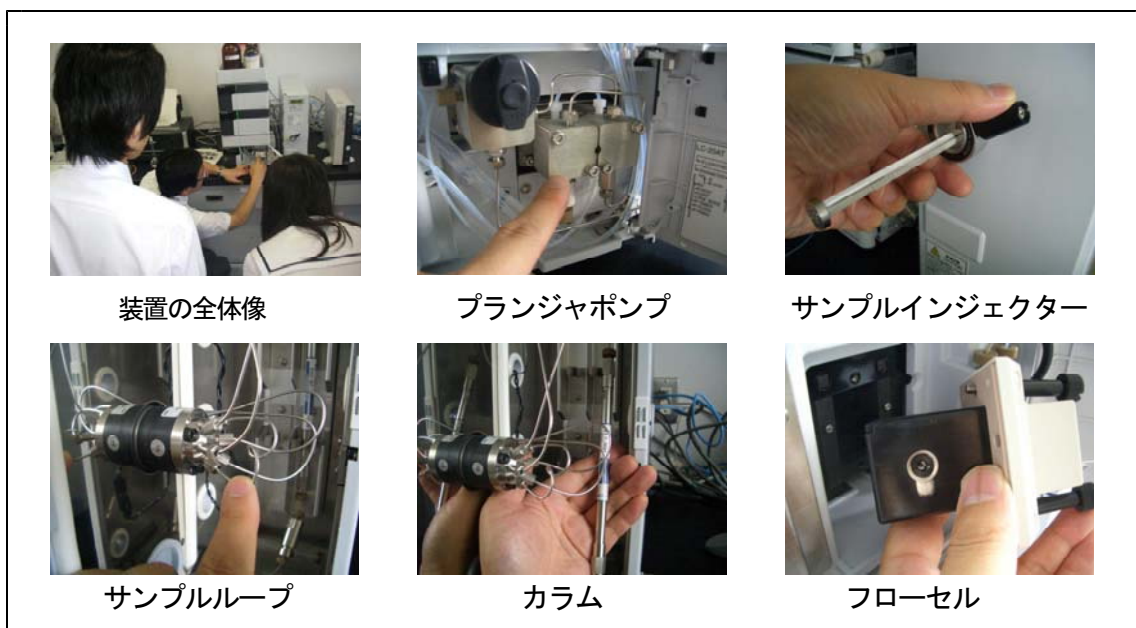


図16 高速液体クロマトグラフの説明の様子（一部）

(ウ) 実試料溶液の調製

実試料（レギュラーコーヒー，ウーロン茶，レモンティー）のカフェインの濃度が，検量線用のカフェイン標準溶液の濃度10～80mg/L付近の値になるように，メスフラスコとホールピペットを用いて，実試料を正確に10～20倍希釈する。

(エ) 高速液体クロマトグラフに標準試料を注入し，検量線を作る。

(オ) 実試料溶液を注入し，検量線からカフェインの濃度を分析する。

イ 高速液体クロマトグラフを使ったカフェインの分析の詳細

メーカーによる講習会での内容に基づき，高速液体クロマトグラフは表 3 の設定でカフェインの分析を行った。

表3 高速液体クロマトグラフの設定

カラム：	Shim-pack VP-ODS (150mm L. ×4.6mm I.D.)		
移動相：	0.010mol/L リン酸 (ナトリウム) 緩衝液 pH 2.6 /メタノール=7/3 (v/v)		
流量：	0.80mL/min	温度：	40℃
検出：	272nm		
注入量：	10μL	標準試料：	カフェイン 10, 20, 40, 80mg/L

ウ 結果

高速液体クロマトグラフによる実試料の分析のうち、レギュラーコーヒーのコンピュータの分析モード画面を図17に示す。①の下側にあるグラフは実試料溶液を注入したときのクロマトグラムであり、②に検量線、③の表に分析結果20.04676mg/Lがそれぞれ表示されている。このとき注入した実試料溶液は20倍に希釈しているため、実試料として用いたレギュラーコーヒーのカフェインの濃度は400mg/Lであることが分かった。

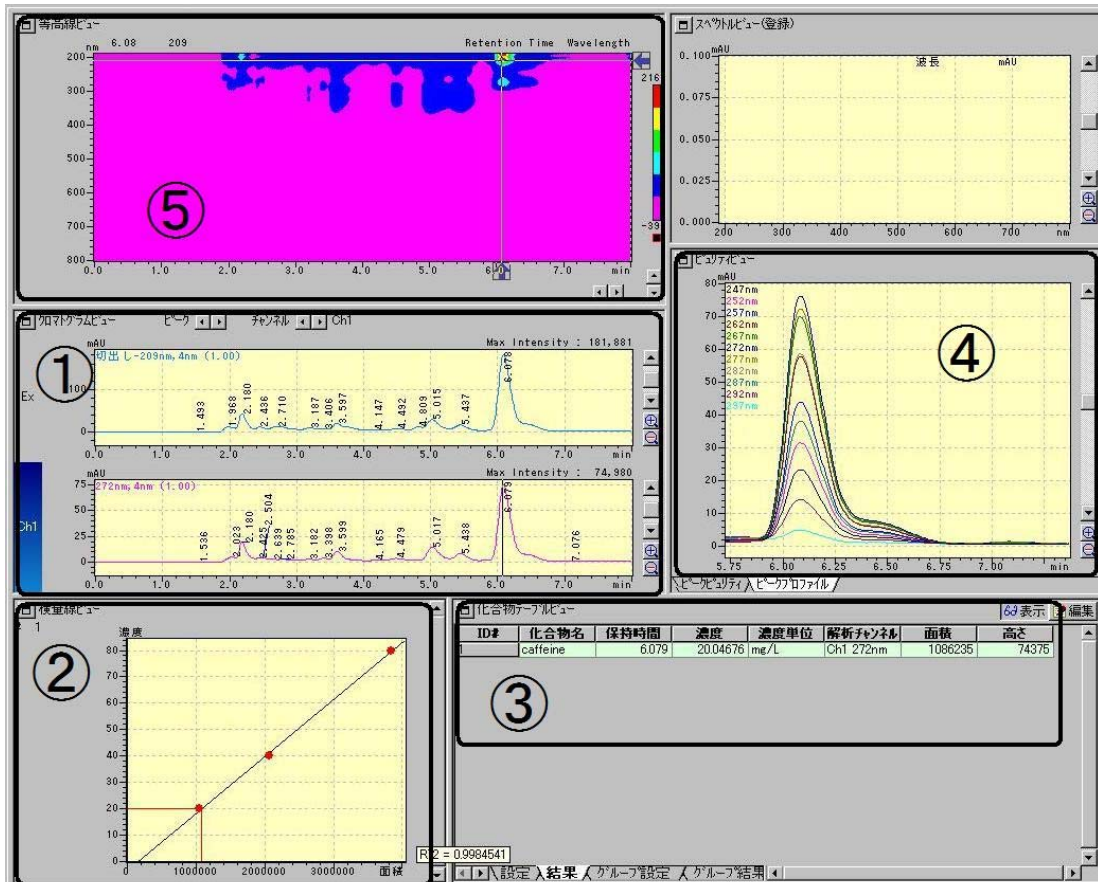


図17 分析モードのコンピュータの画面

また、吸光光度法の基本的な原理の理解を支援する教具を用いた説明により、物質は光の吸収の大きさが波長ごとに異なることを生徒は既に実感しているので、更に高度な内容を含むコンピュータの画面④と⑤についても表4のように生徒に説明することができた。

表4 コンピュータの画面④と⑤の説明

- ・④には、カフェインの分析に波長247～297nm（5 nm間隔）の光を用いたときに得られるピークが、同時に示されている。この画面から272nmの光のとき、最も大きなピークが得られることが分かる。
- ・⑤が示している内容は、やや高度であるがPDA紫外可視検出器ならではの長が表れている部分である。通常よく見かけるグラフでは変数が二つであるが、この部分は三つの変数をグラフ化している。地形図が紙面で緯度、経度、標高を表している方法と同様に、リテンションタイム（保持時

間)を横軸で、光の波長を縦軸で、吸収の強度を色分けによってそれぞれ表している。今回の目的物質カフェインのリテンションタイムは6.079分なので、横軸付近にある矢印を6.0分に合わせてある。画面右上にある矢印にコンピュータのカーソルを合わせ、左クリックしながら上下に動かすことで、光の波長を任意に変えることができ、それに合わせたクロマトグラムが①の上側に表示される。例えばこの操作により、カラムによる分離が良くなく、他の物質のピークが妨害となる場合は、目的物質のピークの大きさだけで光の波長を決めるのではなく、妨害となるピークが低くなる波長を探ることができる。また、分析する目的物質を変更するという場合も、横軸の矢印を移動することで簡単に条件を変更することができる。このように、従来の検出器と異なりPDA紫外可視検出器は、測定後に波長や目的物質を変えて何度でも再解析することができるという優れた機能を持っている。

(2) 実践事例2

実践事例2では、B高等学校の専門学科第2学年の生徒4名を対象に、化学Iの授業「混合物の分離」(3単位時間)を、今回製作した模型を使って当センターで実施した。ホウレンソウから抽出した光合成色素を使ってクロロフィルa, bの定性分析を行い、マニュアル操作を含んだ一連の実験による分析と高速液体クロマトグラフによる分析を行い、双方を比較することで最新の分析機器の有効性を実感することをねらいとした。

ア 授業の流れ

○ 第1時 光合成色素の光の吸収

- ・ホウレンソウの葉から光合成色素をメタノール/アセトン=3/1 (v/v) を用いて抽出する。
- ・レプリカグレーチングシートで簡易分光器を作り、太陽の光を分光させて光の色を観察する。次に、太陽と分光器の間にホウレンソウから抽出した溶液を入れた試験管を置き、同様に観察する。見える色が減っていることから光合成色素がどの波長の光をよく吸収しているかを考察する。
- ・分光光度計(島津製作所UV-1700)を用いて可視光線に対する光合成色素の吸光度を測定する。

○ 第2時 フラッシュクロマトグラフによる光合成色素の分離

- ・光合成色素をフラッシュクロマトグラフにより分離する。
- ・1分ごとに試験管に分取した展開液を、分光光度計(島津製作所UV-1700)を用いて、440nmの光による吸光度を測定する。
- ・横軸に分取した時間、縦軸に吸光度としてコンピュータを使ってグラフを描く。

○ 第3時 高速液体クロマトグラフによる光合成色素の分離

- ・高速液体クロマトグラフの模型を用いて、高速液体クロマトグラフ及び吸光光度法の説明を受けた後、高速液体クロマトグラフで各部の説明を受ける。((1)実践事例1のア(ア), (イ)と同様)
- ・光合成色素を高速液体クロマトグラフで分離する。

イ フラッシュクロマトグラフを使った光合成色素の分離の詳細

図18は今回用いたフラッシュクロマトグラフである。大学や研究所の有機化学研究室では、分離精製的手段としてカラムクロマトグラフィーがよく用いられているが、一般的にカラムクロマトグラフィーは時間を要するため、通常の授業時間で行うことは難しい。そこで、高等学校の実験に取り入れることができるようにとフラッシュクロマトグラフィーが長谷川ら(1990)によって紹介された⁵⁾。フラッシュクロマトグラフィーは、カラム管の上からポンプによって気体を加圧することで展開液を押し出す仕組みを持ち、従来のカラムクロマトグラフィーよりも

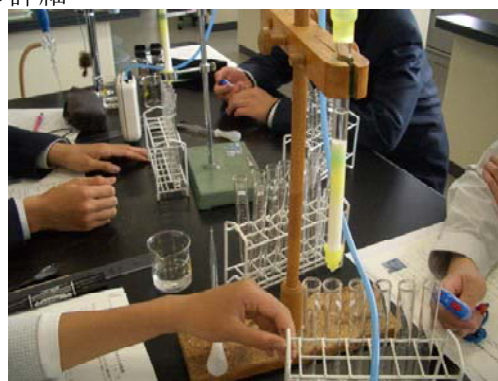


図18 フラッシュクロマトグラフ

所要時間を短くすることができる。

草場ら (2006) の論文を参考にして、表5のようにフラッシュクロマトグラフ

表5 フラッシュクロマトグラフの設定

充填剤：コスモシール75C ₁₈ -OPN (ナカライテスク株式会社)
展開液：メタノール / アセトン = 3/1 (v/v)
ポンプ：エアーポンプ 吐出量 1L/min

の設定をした⁶⁾。カラムにはシリカゲルにオクタデシルシリル基を結合させたODSシリカと呼ばれる充填剤を用いた。シリカゲルと比べ、少々高価であるが、後で使用する高速液体クロマトグラフにもODSシリカを充填したODSカラムが使用されており、分離されてくる物質の順番が一致するという利点がある。第2時では、図18のようにカラム管の下に試験管を並べておき、1分ごとに試験管を替えて展開液を分取した。

ウ 高速液体クロマトグラフを使った光合成色素の分離の詳細

表6に第3時にお

表6 高速液体クロマトグラフの設定

ける高速液体クロマトグラフの設定を示す。移動相はハウレンソウから抽出するとき用いた組成と同じものにした。

カラム： Shim-pack VP-ODS (150mm L. ×4.6mm I.D.)	注入量： 10 μL
移動相： メタノール / アセトン = 3/1 (v/v)	試料： 光合成色素抽出液
流量： 1.00mL/min	
温度： 40℃	
検出： 440nm	

エ 結果

図19は、フラッシュクロマトグラフで分取した展開液を、セルに入れ、分光光度計にセットし、440nmの光における吸光度を測定している様子である。分取した試料の数が全部で15あるため、4名が協力し、手際よく行ったが、30分以上の時間を要した。



図19 分取した試料の吸光度測定

光合成色素の最大吸収波長は430nmから460nmの範囲にあり、ほぼ同じレベルであった。島津製作所のデータブック (以下「データブック」という。) に掲載されている高速液体クロマトグラフによるクロマトグラム測定条件が440nmであり、データを照合しやすくするため、光の波長を440nmに設定して吸光度を測定した⁷⁾。

1分ごとに展開液を試験管に分取したのは、カラムから出てくる展開液の速さが約2mL/minであり、分光光度計のセルに入れる溶液の体積として、少なくとも2mLは必要と考えたからである。しかし1分間隔では、カラムによって分離された物質が、受けた試験管の中で、ある程度再び混合してしまっていると考えられる。

分取した時間ごとに、展開液の吸光度をコンピュータでグラフにしたものが図20である。光合成色素をフラッシュクロマトグラフで分離しているときのカラムは、濃い緑色の光合成色素抽出液が黄色、黄緑色の順に分離していることが観察できた。データブックから考えて黄色がクロロフィルb、黄緑色がクロロフィルaであると考えられる。

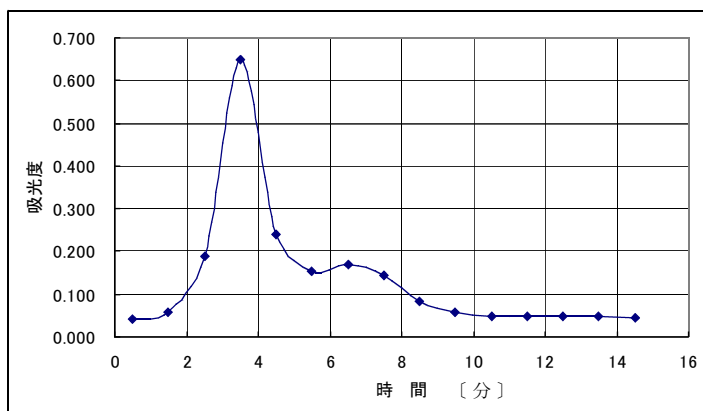


図20 1分ごとに分取した展開液の吸光度

図21は、高速液体クロマトグラフに試料溶液として光合成色素を注入したときのクロマトグラムである。データブックより、5.992分のピークがクロロフィルb、8.793分のピークがクロロフィルaであると考えられる。試料溶液を注入してから10分間で、クロロフィルの分離が終わったことになる。

第2時で、フラッシュクロマトグラフと分光光度計の利用、コンピュータの表計算ソフトウェアによるデータのグラフ化を行った。これらの学習内容でも、十分高度な装置や機器を用いているが、作業を要する部分も多くあり合計所要時間は約90分であった。しかし、高速液体クロマトグラフでは、試料を10 μ L注入するだけで、後は自動化されており、わずか10分という時間でグラフをかくまで処理した。しかも図20に比べて図21のクロマトグラムには数多くのピークが見られるように、光合成色素に含まれるたくさんの成分が分離されていることが分かる。

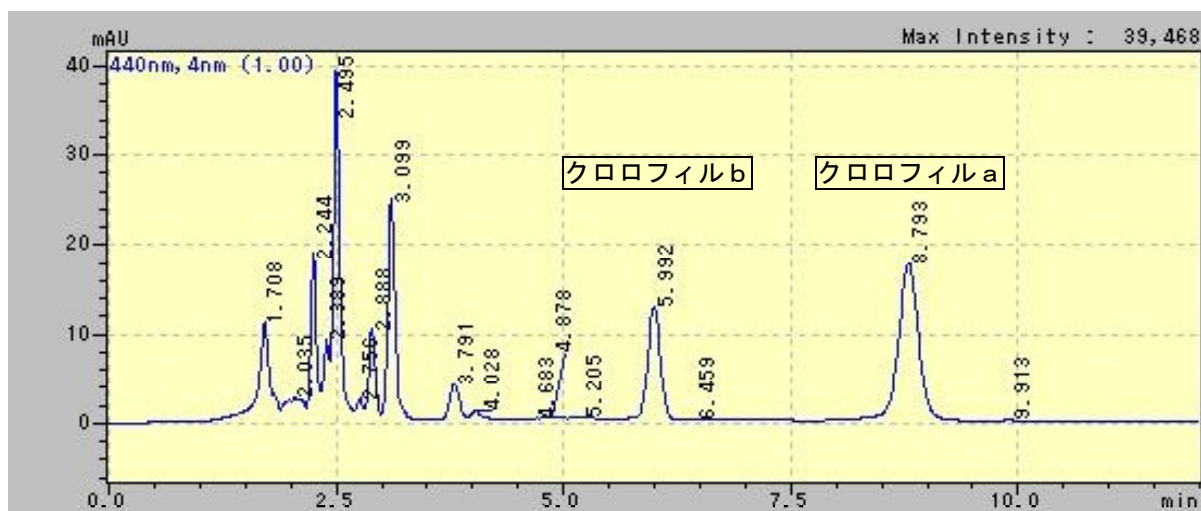


図21 高速液体クロマトグラフによるクロマトグラム

IV 成果と課題

高速液体クロマトグラフというブラックボックスを透明にし、各部一つ一つを手にとって、その役割と共に仕組みが説明できるようにと考え、高速液体クロマトグラフの模型を製作した。材料が安価で、特別な道具や技術を必要とせず簡単に製作できることも考案する際の重要な要素とした。

また、製作を進める中で、生徒の実状や理解度に合わせて、検出部をもう少し詳しく説明することもできるようにと思い、吸光光度法の基本的な原理の理解を支援できる教具を追加して製作した。吸光光度法の内容としては、大学などで学習するようなランバート・ベールの法則まで扱うことを目的とせず、物質には様々な波長の光ごとに吸収する大きさが異なっていること、そしてその物質を通して目に入る光の波長によって人間が色として認識していることを踏まえ、物質に適切な波長の光を上手に利用することで、溶液の色の濃淡が見分けやすくなるということを、この教具によって実感できるようにした。

表7に実践1終了後の生徒の記述を記す。

表7 実践1終了後の生徒の記述

生徒A	資料*と模型を比較しながら説明してもらえたので、とても分かりやすかったです。特にカラムの中で色が分かれていく様子が模型を使うことで、印象に残りやすかったと思います。 *実践時に生徒に配付した図1、図2を含む資料
生徒B	模型での説明で、機器では分かりにくいところが理解できてよかったです。正確ではないかもしれませんが、説明できるような気がします。意外に注射器で吸い取るのが難


しかったです。またレモンティーを薄めずにやってみたいと思います。光の波長で調べるのには驚きました。

生徒C 特に印象に残ったことは、今回用いた機械は一度の測定で、波長を設定していなくても190nm~800nmの全波長の吸収を測定し、コンピュータが記録しているということでした。この機能によって従来の測定よりも、より早く測定を行うということができるところを実感することができました。また高速液体クロマトグラフの構成を理解する際に、模型を見せていただいたことで、より理解しやすくなりました。実際に高速液体クロマトグラフを見て、説明していただいているときも、説明していただいている部分が模型のどの部分に当たるのかなどを考えて聞くことで、より簡単に理解することができました。今回は最新機器の操作することができるという貴重な経験をさせていただき、ありがとうございました。

生徒D 高速液体クロマトグラフを使わせていただくだけでなく、装置の模型などを使ってどういうふうに測定しているのかという、普通には知り得ないことを教えていただいたのがとてもいい経験になりました。今回教えてもらった知識は、大学に入ったら大いに役立つ内容なので、大学への一歩のようでモチベーションが上がりました。こういう機会は滅多にないので本当にうれしく思います。大学に入ることができたら進んで装置などを使っていきたいと思ひます。

実際に高速液体クロマトグラフの説明や操作に向かう前に、模型を用いて説明を受けていたことが、装置の概念・原理の理解に役立った、という記述がすべての生徒に見られる。特に下線部オでは、生徒Cが模型を思い起こしながら高速液体クロマトグラフの構成を理解していることが書かれている。また、下線部アの記述は、この学習活動の導入部分において、高速液体クロマトグラフを全然知らない人から「高速液体クロマトグラフって何？」と尋ねられても、答えられるようになってほしいという教師の言葉に応えたものである。高度な仕組みを持つ最新の分析機器を説明できるという記述から、装置の概念・原理を自分なりに構築し、理解できているということが分かる。

下線部イには、今回実試料を希釈しすぎたことで検量線の標準試料10mg/Lより低濃度になってしまったことから、再度、高速液体クロマトグラフを使って分析したいという意欲が表れている。高速液体クロマトグラフがブラックボックスでは無くなり、操作方法も分かったことで、この生徒にとって自分ができる分析手段の一つに変わりつつあると思われる。さらに、下線部力では今回の探究的な活動を通して、生徒Dが自分の進路を考え、将来の行動にも影響を受けていることが分かる。

下線部ウとエからは、吸光光度法の基本的な原理の理解を支援する教具を使用した効果があったと読み取れる。特に下線部エには、最新の高性能な検出器であるPDA紫外可視検出器の素晴らしさを記しており、17のコンピュータの画面⑤の理解ができていたということになる。

実践2では、まず生徒にマニュアル操作を含んだフラッシュクロマトグラフィーによる分離の操作と分光光度計による吸光度測定、コンピュータの表計算ソフトウェアによるデータのグラフ化を、その活動ごとに意味を確認しながら取り組ませた。これら一連の実験の後に、高速液体クロマトグラフを使って光合成色素の分離を行った。生徒は、自分たち4名が約90分間かけて行ったことを、たった10分の間に、わずか10μLの試料を注入するという操作だけでやってしまう高速液体クロマトグラフを目の当たりにして、「とてもたくさんのを一気に測定できてとてもすごいと思った」「たった数滴でも成分を分離して何の成分がどの程度あるかが分かる機械だ」などの記述をレポートに記し、高速液体クロマトグラフの優れた性能について圧倒されたようである。

実践2における高速液体クロマトグラフの使用方法のように、ねらいに応じて、本来持っている定量分析の機能を必ずしも前面に出さなくても、授業に有効に使うことができた。

今回製作した模型は、高速液体クロマトグラフを実際に使うことを前提に、使用前に使うことによって得られる教育的な効果を目的としたものである。そのため問題点としては、高価な高速液体

クロマトグラフを所有する高等学校は、工業に関する学科を設置する高等学校を除いて、県内では恐らく皆無であることと、機器の周りに並ぶことのできる人数しか一度に指導することができないことが挙げられる。しかし、模型には表8のような特長が備わっているため、高速液体クロマトグラフを持たない学校でも、この模型を製作し、授業で使用するということは大変意義深いといえる。

表8 高速液体クロマトグラフの模型の特長

- | |
|---|
| <ul style="list-style-type: none">・高速液体クロマトグラフが持つ仕組みをできるだけ忠実に反映したものとなっていること・材料が安価であり、簡単に製作できること・展示して見せるだけでなく、実際に混合物をカラムで分離し、検出部で数値化するという分析過程のデモンストレーションができること・試料注入から廃液だめに至るまでの所要時間が10分もかからないこと |
|---|

高等学校理科の化学において、「物質の分離と精製」「イオン交換樹脂」などを学習する授業での模型の使用はもちろんのこと、最新の科学技術の紹介として他科目の理科の授業でも模型を動かして生徒に見せることは、答申にある「科学技術が日常生活や社会を豊かにしていることや安全性の向上に役立っていること」を認識させることに大きく寄与すると期待できる。

今後の課題としては、高速液体クロマトグラムによる分析データの利用を位置付けた探究的な活動の教材開発であり、その研究を進めていきたい。

V おわりに

実践及び実践後の生徒の記述から、実験の過程に高速液体クロマトグラフによる分析データの利用を位置付けた探究的な活動において、今回製作した模型を活用することによって、生徒が分析操作に意欲的に取り組み、実験に達成感を得やすくなると同時に分析機器の有効性を実感することにつながるということが分かった。このことは「I はじめに」で記した答申の「改善の具体的事項」の四つのポイントのうち、「探究的な活動を重視する」「科学に対する関心をもち続ける態度を育成する」「生徒の能力・適性等に応じて深く学び、自然を探究する能力や態度を高める」の三つに深く関係し、大きく伸長させることになり、答申によって指摘された課題の克服に向けての意義が大きいと考える。

以前、ジクロロボスやメタミドホスなどの食品への農薬混入事件では、残っている食品から迅速に微量成分が分析された。そこで活躍した機器がガスクロマトグラフ質量分析計(GC/MS)であるが、分析機器については新聞にほとんど記載されることがなかったと記憶している。一般市民の興味が分析方法には無いことを残念に思いながらも、高等学校で化学を学習し、興味・関心が高い生徒でさえも、ガスクロマトグラフや高速液体クロマトグラフという分析機器の名称すら聞いたことがない可能性があり、このことを改善したいという思いが、今回の模型製作のもう一つの原動力となった。

平成21年3月に告示された高等学校学習指導要領では、理科の科目に新たに「科学と人間生活」が設置され、平成21年7月に出された高等学校学習指導要領解説理科編では「化学基礎」の目標に「日常生活や社会との関連を図りながら…(以下略)」が、「化学」の学習する内容について大項目ごとに「日常生活や社会と関連付けて考察できるようにする」が記載されているように、化学を学ぶことに意義や有用性を実感させることが課題の一つとなっている。国立教育政策研究所の研究指定校の報告によると、科目の導入期の指導だけではなく、項目ごとに化学の成果や学ぶ意義に触れることで、化学に対する関心や意欲の低下を防ぐことができたとしている⁸⁾。本来、化学の意義や有用性は、言葉だけで声高に生徒に語るものではなく、授業で化学の内容をよく理解させることによって生徒自らが感じ取るものとも考えることもできる。今回の研究で得た成果は、化学の意義や有

用性を生徒自身に実感させるという面においても大変有効であることを示している。

科学技術や産業社会が大きく発展した現代では、ブラックボックスとなる事象は多くなってしまうことは避けられないにしても、化学の教師は、生徒に化学について興味・関心を持ち続けさせるようにしなければならない。新しい学習指導要領が告示されたこの機会に、更なる授業改善に取り組んでいくべきと考える。本研究がその一助になれば幸いである。

謝辞：本研究において当センターの高速液体クロマトグラフの使用方法やメンテナンスについて、岡山学院大学の松下至准教授に御指導いただきました。ここに、御礼申し上げます。

○引用・参考文献

- 1) 中央教育審議会（2008）「幼稚園，小学校，中学校，高等学校及び特別支援学校の学習指導要領等の改善について」（答申）
- 2) 林誠一（2009）「新しい学習指導要領高等学校理科の改訂と化学領域の特徴(1)」中等教育資料 10月号，ぎょうせい，pp. 56-57
- 3) 長谷川正，臼井豊和（1990）「簡単な単離操作法としてのフラッシュクロマトグラフィー」化学と教育第38巻，pp. 460-461
- 4) 岡山県教育センター（1998）「化学実験教材の開発とその指導に関する研究」
- 5) 前掲書3)
- 6) 草場実，松下至（2006）「高等学校化学におけるフラッシュクロマトグラフィーの教材化と授業実践」化学と教育第54巻，pp. 514-517
- 7) 島津製作所「島津高速液体クロマトグラフ 食品分析応用データ集」
- 8) 林誠一（2009）「新しい学習指導要領高等学校理科の改訂と化学領域の特徴(3)」中等教育資料 12月号，ぎょうせい，pp. 54-55

平成20・21年度岡山県総合教育センター所員研究
「分析機器の基本的な概念・原理を示す
模型を用いた化学の指導方法に関する研究」
研究協力委員会

研究協力委員

三宅 宏	岡山県立津山工業高等学校教諭
安東 知之	岡山県立岡山一宮高等学校教諭
依田 耕治	岡山県立高梁城南高等学校教諭
米田 直生	岡山県総合教育センター教科教育部指導主事