



## 第8回 科学の甲子園 全国大会

# 実技競技②「糖を問う」

## 問 題

(競技時間 100 分)

### ■注意事項

1. 指示があるまでは、冊子を開かないこと。
2. 筆記用具以外(携帯電話や外部と接続可能なスマートウォッチ等の電子機器を含む)は机上に置かないこと。
3. 競技開始の合図で、まず冊子の全ページが印刷されていることを確認すること。競技中に冊子の印刷不鮮明、ページの落丁・乱丁に気づいたときは、手を挙げて監督に申し出ること。  
次に、解答用紙の所定の欄に、学校名・番号・学年・氏名を記入すること。解答用紙の2枚目以降には、学校名と番号を記入すること。
4. 競技を始める前に、試薬や器具類がすべてそろっていることを確認し、過不足や不具合があった場合は、監督に申し出ること。実験により不足した場合の補充は原則として行わない。
5. 試薬や器具類の取り扱いには十分に注意すること。実験中は白衣、保護めがね、実験用手袋を着用すること。
6. 怪我や体調不良、試薬が大量に体に付くなどトラブルが生じた場合は、すぐに手を挙げて監督に知らせること。トイレに行くときも同様である。
7. 解答はすべて解答用紙に記入すること。
8. 競技中の質問は受け付けない。
9. 競技終了の合図まで、監督の許可なしに、会場の外に出ないこと。
10. 競技終了後、冊子はすべて回収する。

【はじめに】

天然高分子化合物として知られる糖類は、生体反応との関連が深い化合物である。糖類の基本単位は単糖類で、2つの単糖類が結合したものを二糖類、さらに多数の単糖類が結合したものを多糖類という。

単糖類の1つであるグルコースは、水溶液中で3種類の異性体が平衡状態にある(図1)。鎖状構造でアルデヒド基を持つ単糖類はアルドースという。

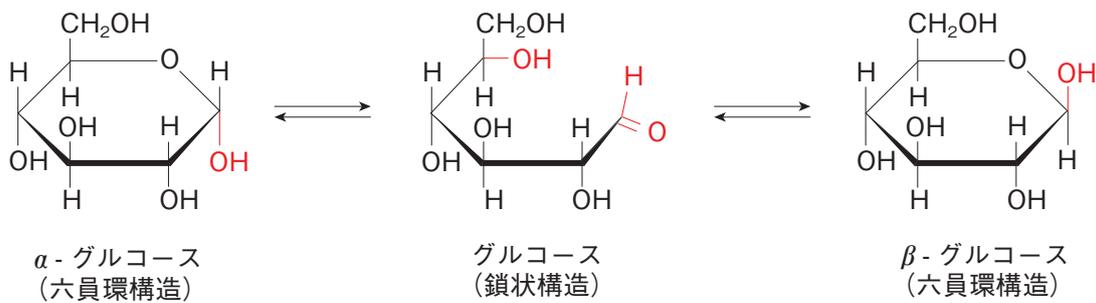


図1 水溶液中のグルコースの構造変換  
(主鎖の炭素原子を省略し、炭素同士の結合を折れ線で示している)

またフルクトースは、水溶液中で主に3種類の異性体が平衡状態にある(図2)。鎖状構造でケトン基を持つ単糖類はケトースという。

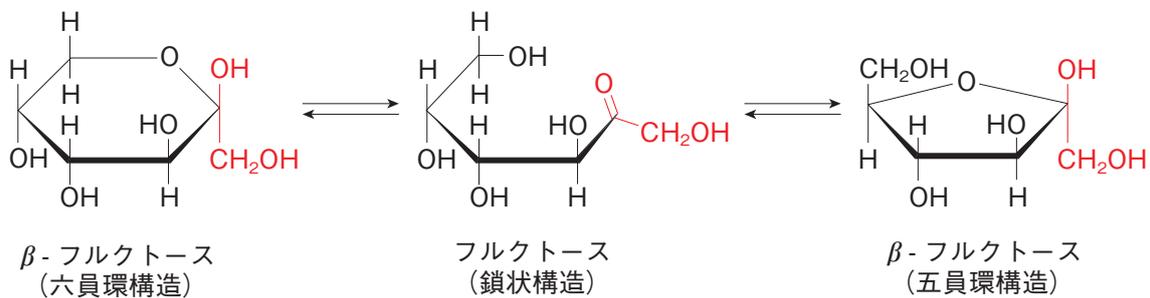


図2 水溶液中のフルクトースの構造変換

単糖類はお互いに結合することができ、単糖類が2分子結合したものを二糖類と呼ぶ。例えば、単糖類である $\beta$ -グルコースが2分子脱水縮合すると、二糖類であるセロビオースを生じる(図3)。逆に、二糖類であるセロビオースを加水分解すると、単糖類であるグルコースが2分子生じる。

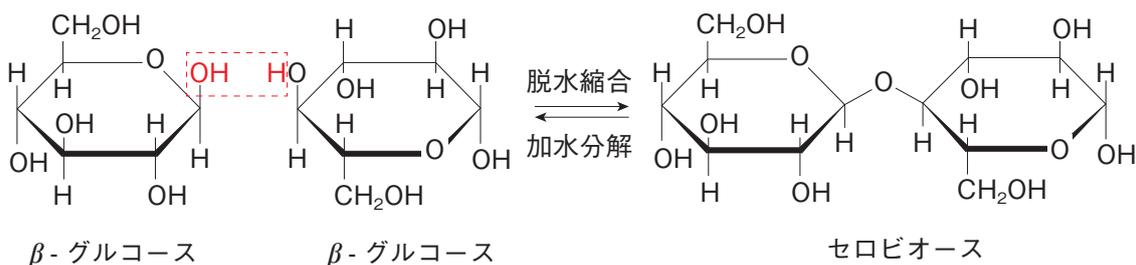


図3  $\beta$ -グルコース2分子から脱水縮合によるセロビオースの生成と加水分解

ところで、炭素原子に4種の異なる原子または原子団が結合している場合、この炭素原子を不斉炭素原子という。不斉炭素原子を持つ化合物は互いに重ね合わせることでできない2種の異性体が存在し、これらの分子は互いに鏡に対する実像と鏡像の関係にあるので、鏡像異性体と呼ばれる。鏡像異性体は、ほとんどの物理的性質や化学的性質は同じであるが、偏光面を同じ角度だけ互いに逆方向へ回転させるという性質があり、この現象を「光学活性」と呼ぶ。偏光面とは、光を偏光板に通すことによって得られる一方向のみで振動する偏光の振動面のことであり、通過してくる光に向かって時計回りに回転させる鏡像異性体は「右旋性 (+)」、反時計回りに回転させる鏡像異性体は「左旋性 (-)」であるという。旋光性の大きさは旋光度で表される (図4)。

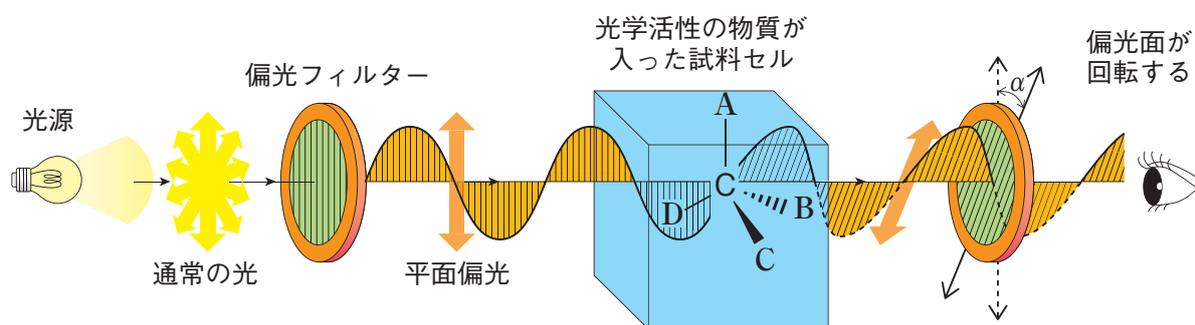
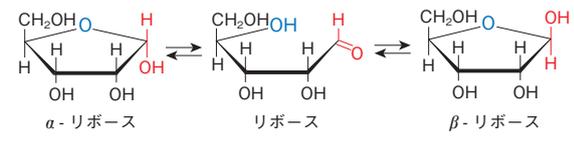
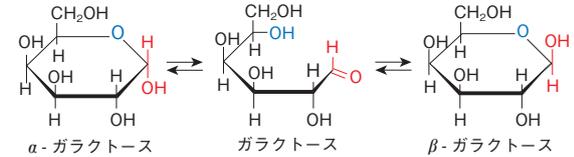
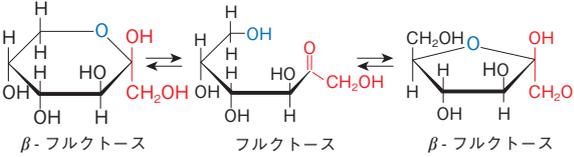
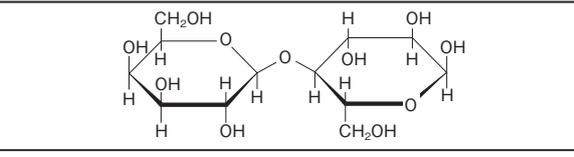
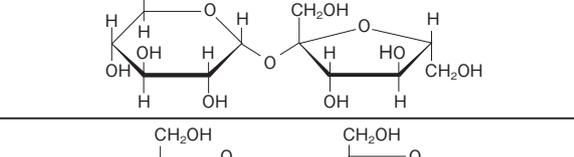
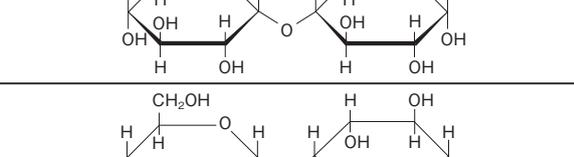
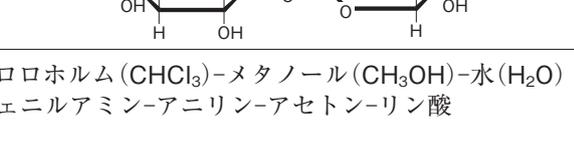


図4 偏光面を回転させる現象の説明図

糖類は、多数の不斉炭素原子を有し、旋光性を示すものがある。旋光度は、糖類の種類や立体構造によって異なる。

この競技では、5種類の未知の糖類溶液が与えられる。【実験1】簡易旋光度計(自作)による旋光度の測定、【実験2】フェーリング液の還元、【実験3】薄層クロマトグラフィーによって、これら5種類の糖類が何かを推定する(問1)。また、二糖類がどの単糖類の脱水縮合によってできているかを考察する(問3)。各糖類の性質と物性(表1)および実験の概略(図5)を次に示す。なお、各実験の結果や推定・考察についても解答用紙に記入すること。

表1 各糖類の性質と物性

単糖類	分子構造の例	比旋光度 [α] <sub>D</sub> <sup>20</sup>	薄層クロマトグラフィー	
			R <sub>f</sub> 値 <sup>[a]</sup>	発色反応 <sup>[b]</sup>
グルコース	 <p>α-グルコース      グルコース      β-グルコース</p>	+ 52.7	0.23	青紫
リボース	 <p>α-リボース      リボース      β-リボース</p>	- 19.7	0.35	青緑
ガラクトース	 <p>α-ガラクトース      ガラクトース      β-ガラクトース</p>	+ 80.2	0.20	灰青
マンノース	 <p>α-マンノース      マンノース      β-マンノース</p>	+ 14.8	0.25	灰青
フルクトース	 <p>β-フルクトース      フルクトース      β-フルクトース</p>	- 90.5	0.26	オレンジ赤
二糖類	分子構造	比旋光度 [α] <sub>D</sub> <sup>20</sup>	薄層クロマトグラフィー	
			R <sub>f</sub> 値 <sup>[a]</sup>	発色反応 <sup>[b]</sup>
ラクトース		+ 52.4	0.10	灰青
スクロース		+ 66.5	0.16	茶
マルトース		+ 131	0.13	青紫
トレハロース		+ 178	0.12	淡灰青

[a] 展開溶媒 クロロホルム (CHCl<sub>3</sub>)-メタノール (CH<sub>3</sub>OH)-水 (H<sub>2</sub>O) (30 : 20 : 4) における参考値

[b] 発色剤 ジフェニルアミン-アニリン-アセトン-リン酸

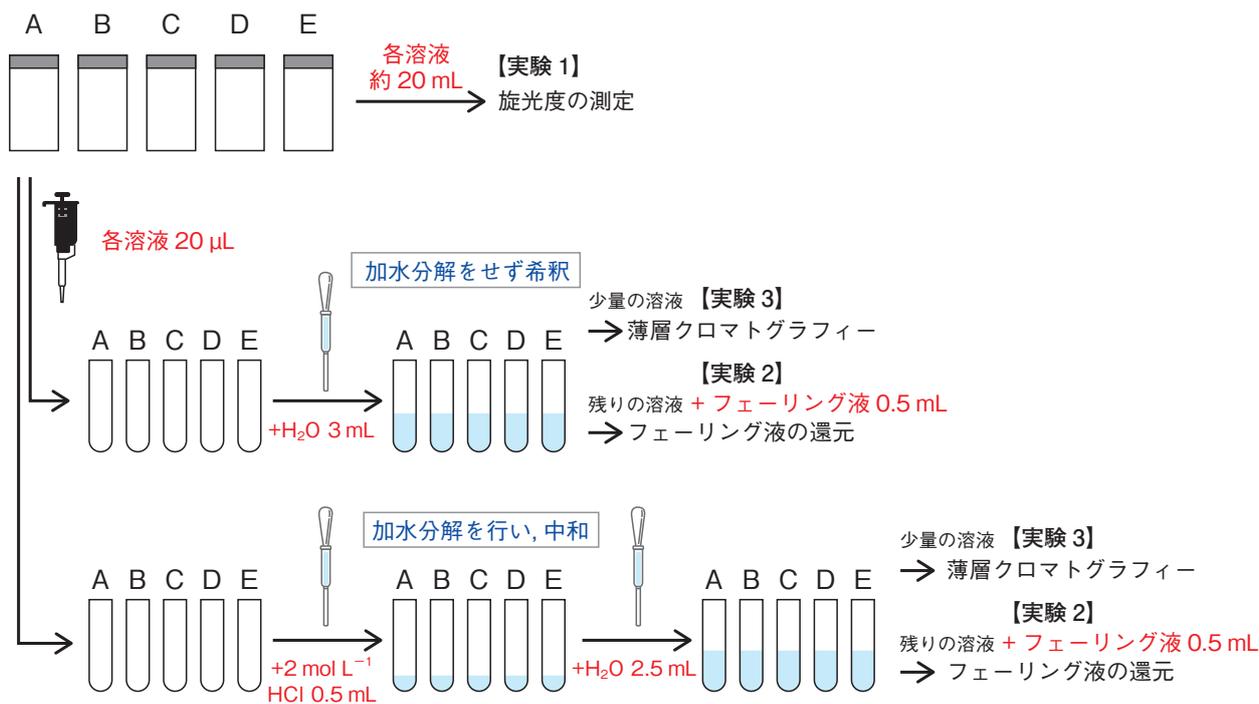


図5 実験の概略

【実験 1】簡易旋光度計（自作）による旋光度の測定



図6 完成した旋光度計

「実験の手引き」にしたがって旋光度計(図6)を組み立て、次の方法により糖の比旋光度を求める。

- (1) 純水(ブランク)をガラス容器に入れて、上部の偏光板を回転させ、最も暗くなった角度を記録する。ブランクの測定値はその他の測定でも一定とみなす。
- (2) A～Eのいずれかの糖類溶液を別のガラス容器に入れて、(1)と同様に操作し記録する。これをすべての糖類溶液について行う。
- (3) 純水(ブランク)の測定角度を基準とし、糖類溶液にした際に回転した角度を次の式の旋光度 $\alpha$ [°]として比旋光度を求める。このとき、時計回りに回転した場合は回転角度にプラス

(+)の符号を，反時計回りに回転した場合は回転角度にマイナス(-)の符号を付ける(図7)。

比旋光度  
各物質の比旋光度  $[\alpha]$  は次の式によって求められる。

$$[\alpha] = \frac{\alpha}{cl}$$

$[\alpha]$  : 比旋光度  
 $\alpha$  : 旋光度 $^{\circ}$ (偏光面の回転した角度)  
 $l$  : 試料溶液の層長[dm]  
 $c$  : 試料溶液の濃度[g/mL]

(注意) 比旋光度( $[\alpha]_D^{20}$ )は一般的に，試料溶液濃度 1.0 g/mL，試料層長 1.0 dm，20 °C，ナトリウム D 線(今回の LED ライトに近い波長)で測定して得られる。各糖類の比旋光度の文献値を表 1 に示した。

今回与えられた未知の糖類溶液は 0.3 g/mL である。

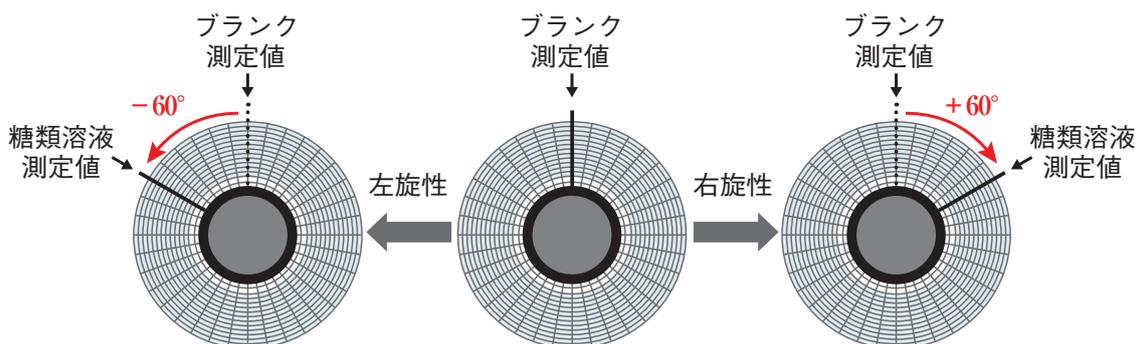


図7 回転方向と旋光度の符号との関係

(4) 測定で得られた比旋光度と文献値 ( $[\alpha]_D^{20}$ ) を比較して，推定される糖を記入せよ。なお，推定される糖が複数ある場合は，そのすべてを記入すること。

**【加水分解】**

次に行う【実験2】および【実験3】では、糖を加水分解した溶液を使用する。与えられた糖類溶液は高濃度であるため、次の方法のように、少量の糖類溶液を用いて加水分解を行い、その後希釈する。

- (1) 与えられた糖類溶液 20  $\mu\text{L}$  をマイクロピペッターではかり取り、各試験管の底に入れる（注意：このときピペットチップを試験管の底につけること）。それぞれの溶液に 2 mol/L 塩酸を 1 mL ポリスポイトで 0.5 mL ずつ加える。
- (2) 湯浴で 10 分間加熱する。湯浴はホットプレート上のビーカー（各チーム 2 個のうち 1 個）を用いる。（やけどに注意する）
- (3) 軍手、取手付ポリビーカーを使って加熱した試験管をチーム机上に戻す。水が入った広口ポリ瓶を用いて、溶液を冷却したあと、炭酸水素ナトリウムを少しずつミクロスパーテルで加え、中和する（泡が出なくなるまで加える）。
- (4) ポリスポイトで 2.5 mL の純水を加えて希釈する。
- (5) (4)の溶液の一部を、【実験3】の薄層クロマトグラフィー用に残す（秤量皿に数滴残す程度でよい）。



図8 加水分解の様子と溶液の取り分け

**【実験2】フェーリング液の還元**

① 加水分解をせず希釈した糖類溶液、② 加水分解を行ったあと希釈した糖類溶液について、それぞれフェーリング液を還元するか調べる。この反応で、フェーリング液に含まれる銅(II)イオンが還元されると、赤色の酸化銅(I)の沈殿が生じる。

**① 加水分解をせず希釈した糖類溶液**

- (1) ポリスポイトで 3 mL の純水をはかり取り、試験管に入れる。与えられた糖類溶液 20  $\mu\text{L}$  をマイクロピペッターではかり取り、各試験管に加えて希釈する。
- (2) (1)の溶液の一部を、【実験3】の薄層クロマトグラフィー用に残す（秤量皿に数滴残す程度でよい）。

- (3) (1)の各溶液に1 mL ポリスポイトでフェーリング液 0.5 mL を加え、加水分解のときと同様に10 分間加熱する。
- (4) 溶液の変化を観察し、含まれている糖に還元性があるか調べる。



図9 希釈した糖類溶液(左)と溶液の加熱(右)

② 加水分解を行ったあと希釈した糖類溶液

- (1) 【加水分解】(4)の各溶液にフェーリング液 0.5 mL を加え、10 分間加熱する。
- (2) 溶液の変化を観察し、含まれている糖に還元性があるか調べる。

【実験3】薄層クロマトグラフィー (Thin Layer Chromatography ; TLC)

TLC シートは支持体にシリカゲル粉末を塗布したもので(図 10)、剥離しやすいため取り扱いに注意する。また、試料中に含まれる水分はクロマトグラフィーの妨げになるので、試料液中の水分を除去する必要がある(本実験では乾燥させる)。試料を TLC プレートに載せることをスポットするという。なお、スポットは支持体ではなく薄層に行うこと。

$R_f$  値は次式で求める(図 11)。正確な  $R_f$  値を測定するには、容器内を展開溶媒の蒸気で充分飽和させておく必要がある。

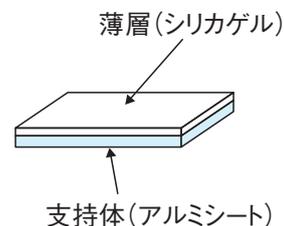


図 10 TLC プレートの構造

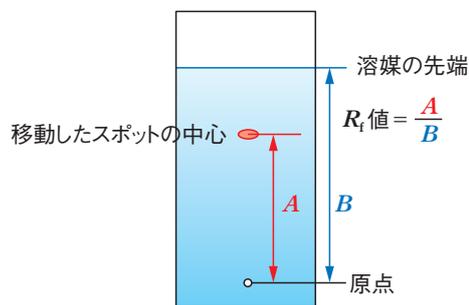


図 11  $R_f$  値の求め方

$$R_f \text{ 値} = \frac{\text{原点から移動したスポットの中心までの距離}}{\text{原点から溶媒の先端までの距離}}$$

本実験では、① 加水分解をせず希釈した糖類溶液、② 加水分解を行ったあと希釈した糖類溶液の場合の溶液について、それぞれ薄層クロマトグラフィーを行う(図 12)。また、スポッ

トを視覚化するために発色剤を用いる。用いる TLC プレート，展開溶媒，発色剤は次のとおりである。

表2 TLC に用いる器具・試薬

TLC プレート (アルミシート)	シリカゲル 60
展開溶媒	クロロホルム(CHCl <sub>3</sub> )-メタノール(CH <sub>3</sub> OH)-水(H <sub>2</sub> O) (30 : 20 : 4)
発色剤	ジフェニルアミン-アニリン-アセトン-リン酸

(注意) 展開溶媒は，直接触れないようにすること。

### ① 加水分解をせず希釈した糖類溶液の場合

- (1) TLC プレートの下端から 1.0 cm に鉛筆で線を引く。
- (2) 5 種類の糖類溶液をスポットする原点を等間隔に鉛筆で 5 個プロットする。このとき，TLC プレートの左右両側と原点との間隔も近すぎないように注意すること。
- (3) **【実験 2】** ①-(2)の溶液を，マイクロピペッターを用いて 0.5 μL ずつ TLC プレートにスポットする(通常キャピラリーでスポットを付けるが，試料が多いとテーリングして分離が難しくなるため，マイクロピペッターを利用する。また，今回使用するマイクロピペッターの計量範囲外の使い方だが，スポットするうえでは問題ない。0.5 μL は非常に少量であり，マイクロピペッターの第 1 ストップはほとんど動かない程度である。0.5 μL でスポッティングすると，スポット直径は約 2 mm となる)。→「実験の手引き」  
図 20(P.10)参照
- (4) TLC プレートをドライヤーでよく乾燥させる。
- (5) TLC プレートを展開溶媒に浸し，容器の蓋をする。展開溶媒が TLC プレート上部から約 1 cm に達したらピンセットで取り出し，素早く展開溶媒が達した線に鉛筆で印を付ける。(注意) このとき，展開容器の蓋は必ず閉めておくこと。
- (6) TLC プレートをドライヤーでよく乾燥させる(最低 15 秒以上，温風を当てる)。
- (7) 容器に入った発色剤に TLC プレート全体を浸して，発色剤を塗布する。余分な液体を拭き取り，ホットプレート(器具庫)上で加熱してすべての糖を発色させる(2～3 分で発色する)。スポットの色を観察する。
- (8) 発色した部分を鉛筆で囲み， $R_f$  値を計算する。

### ② 加水分解を行ったあと希釈した糖類溶液の場合

**【加水分解】**(5)の溶液を用いて，① 加水分解をせず希釈した糖類溶液の(1)～(8)と同様に行う。

(注意) 展開条件のわずかな違いで， $R_f$  値が文献値とずれる場合がある。 $R_f$  値の傾向の違いや発色の違いを観察して，どの糖に対応するか判断すること。

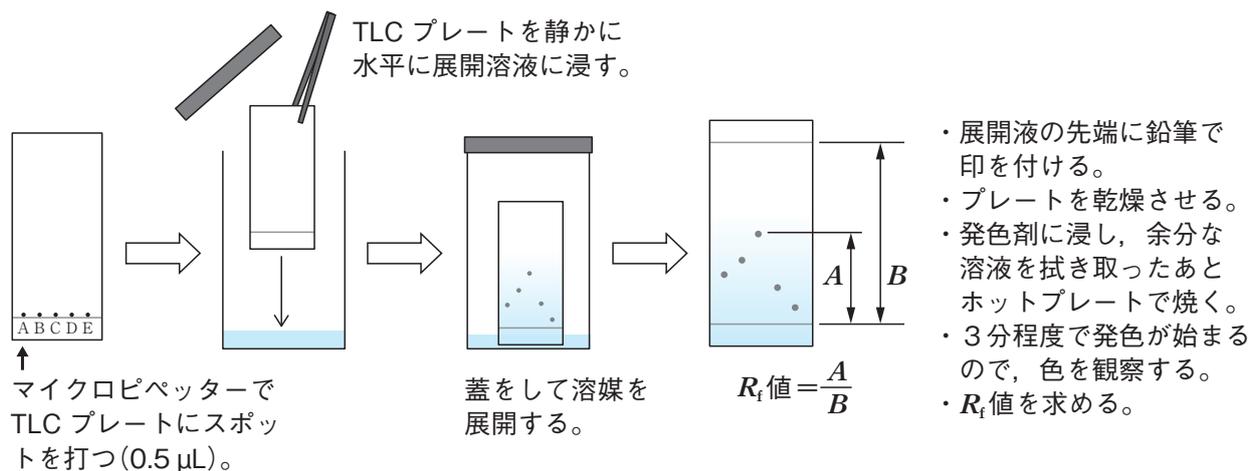


図 12 薄層クロマトグラフィー

【問題】 以下の各問いに答えよ。

問 1 5 種類の未知の糖類溶液(A, B, C, D, E)には、単糖類 3 種類と二糖類 2 種類のどれかが入っている。各実験結果と表 1 のデータを比較して、表 1 の 9 種類の糖から選べ。また、選んだ理由を実験結果に基づいて答えよ。

問 2 未知の糖類溶液のうち、還元性を示さない糖はどれか答えよ。また、還元性を示さない理由について、構造の特徴から説明せよ。

問 3 未知の糖類溶液に含まれている二糖類は、それぞれ何の単糖類が脱水縮合してできたものか。構成する単糖類を答えよ。また、その理由を実験結果にも触れながら説明せよ。

採点および順位の決定方法について

1. 本競技では、**実験 1～3**の結果をもとに、解答用紙に記載された実験記録と考察、および**問 1～3**の解答を 240 点満点で総合的に評価する。
2. 合計得点が 1 位または 2 位のチームが複数ある場合には、**実験 3**の得点が高い方のチームを上位として 1 位、2 位を決定する。
3. 上記によっても決まらない場合には、**実験 1**の得点、**問 1**、**問 2**、**問 3**の得点の順に評価して、1 位、2 位を決定する。
4. 3 位以下は同順位のままとする。