



科学の甲子園ジュニア 全国大会

実技競技①「酵素の濃度を決める」

競技説明

●次の各項目を確認し、安全に競技を行うこと。

<共通確認事項>

- 競技開始の合図があるまでは、冊子を開かないこと。
- 競技開始の合図で全ページ印刷されていることを確認し、競技中に問題冊子の印刷不鮮明、ページの落丁・乱丁、解答用紙の汚れ等に気づいた場合は、手を挙げて係員に申し出ること。
- 競技開始の合図があったら、問題用紙、解答用紙および追加用紙の所定の欄に、都道府県名、チーム番号、学校名、氏名などを記入し、解答用紙が複数あるものについて、2枚目以降はチーム番号のみを記入する。
- 解答はすべて解答用紙に記入すること。解答用紙以外は採点されないので注意すること。
- 問題冊子、計算用紙は競技終了後すべて回収する。
- 図書や携帯電話等外部と接続可能な電子機器の持ち込みを禁止する。
- 終了の合図があるまで、係員の許可なしに、会場の外に出ることはできない。気分が悪くなったとき、トイレに行きたくなったときは、手を挙げて係員に知らせること。
- 「終了」の合図で、すぐに筆記用具を置くこと。その後、指示に従い解答用紙および追加用紙をクリップ留めすること。

<本競技の確認・注意事項>

(1) 確認事項

- 実験は用意された白衣と保護めがねを着用すること。
- 筆記具・腕時計以外は持ち込めない。
必要な器材はすべて各チームの机上に用意されている。
- 試薬は、実験に十分な量が配付されている。不足した場合の補充はない。
- 器具の破損、安全面での注意を受けた場合などは減点となることがある。

(2) 実験および安全に関する注意事項

- 試薬類は手などについても心配ない。タオルペーパーなどでふき取ること。
- 実験中に怪我をした場合には、すぐに手をあげて係員に申し出ること。
- 競技終了後に競技進行管理者の指示により、実験器具類の後片付けを行う。

(3) 競技に使用する材料や器具

- 不足や不具合の場合の交換を除き、不足した場合の補充はない。
- 競技を始める前に、次のチェックリストで器材がすべてそろっているか、確認すること。
- 過不足や不具合があった場合には、すぐに手をあげて競技支援員に申し出ること。

都道府県名		チーム番号	
-------	--	-------	--

「酵素の濃度を決める」

洗剤やめんつゆなどの生活用品には「濃縮タイプ」と呼ばれるものがある。4倍濃縮、10倍濃縮という表示を見たことがあるだろう。これらは、使用する際に4倍や10倍に薄めることになる。このように私たちは生活のなかで「薄める」という作業を行っている。科学用語では「希釀する」という。10倍濃縮つゆのつもりで3倍濃縮つゆを薄めたら、薄すぎて美味しいだろう。つまり希釀は液体の分量を量って正しく行わなければならない。

では、希釀された液体がいったい何倍に希釀されたのか、調べることはできるだろうか。このような作業は生活の中ではあまり行われないが、科学の世界ではよく行われる、非常に重要な作業である。今日、皆さんは、科学の最先端で実際に用いられている器具を用いて「濃度を決める」という作業を行う。ここでは、だ液に含まれる、デンプンを分解して糖に変える働きをする「アミラーゼ」という酵素の濃度を決める。では、グループでしっかり話し合って以下の問いに答えなさい。

1. 競技の概要

この課題では、濃度がわからない3つのアミラーゼ酵素液について、実験を通し、問題1で濃度の順位を、問題2でそれらの濃度比を決定する。短時間でどれだけ正確に求められるかを競う。したがって正確さに差がない場合、より短い時間で回答できたチームを上位とする。

問題に取り組むための実験方法、実験器具の使い方は、例題を解きながら習得すること。また、問題に取り組む前に5分間、実験計画を立てる時間が与えられる。

アミラーゼ酵素液の働きによって、デンプン溶液のデンプンが分解されることは、ヨウ素デンプン反応で検出する。このヨウ素デンプン反応は、小学生のときに、イモなど調べたいものにヨウ素液をたらしたとき、紫色に染まればデンプンがある、染まらなければデンプンがない、という実験で知っていると思う。しかし、今回の問題では、このヨウ素デンプン反応による色のちがいで、酵素の濃度を比較しなければならない。そこで、デンプン溶液やアミラーゼ酵素液などを1000分の1mLの単位である μ （マイクロ）Lを計り取ることができるマイクロピペットという器具を使って、希釀系列（段階的な濃度に希釀したもの）を作ったり、混ぜたりして、実験を行う必要がある。

問題では、デンプンの適切な濃度を見いだすことがポイントとなる。また、配布されている1.5mLチューブを用いて希釀するので、このチューブ内に収まる容量で希釀操作を行わなければならない。かといって、余りに少ない量で行うと実験誤差が大きくなり正確性が損なわれる。したがって、適切な容量を設定して効率的に希釀系列を作成することが求められる。ここでは、正確で手早い実験操作もさることながら、適切な実験計画を立てることが重要なポイントとなる。

アミラーゼ酵素液によるデンプンの分解は、酵素反応であるので温度条件は反応速度に影響を及ぼし、反応させる時間も同じでなければ比較できない。これらの点に配慮し、手早く実験ができることも重要なポイントとなる。

2. 競技の流れ

(1) 競技の説明と例題 (30分)

進行員による競技の説明、ビデオによる実験器具の使い方、例題による実験器具の使い方と実験方法の習得。例題については、評価対象としない。

例題終了後、濃度がわからない3つのアミラーゼ酵素液が配布される。本実験まで手を触れないこと。

(2) 実験計画の立案 (5分)

(3) 本実験 (問題1、問題2) と解答用紙への記入 (55分)

3. チェックリスト

※このチェックリストで材料、道具類がそろっているかを確認すること。

不足がある場合は、ただちに手を挙げて係員に申し出ること。

- ①マイクロピペット：オレンジ (20-200 μ L) 2台
- ②マイクロピペット：ブルー (100-1000 μ L) 2台
- ③ピペット用チップ：イエロー (20-200 μ L ピペット用) 1箱
- ④ピペット用チップ：ブルー (100-1000 μ L ピペット用) 1箱
- ⑤チップ回収カップ 1個
- ⑥デンプン溶液 2本
- ⑦ヨウ素溶液 1本
- ⑧純水が入った20mLガラスびん 1本
- ⑨色水が入った20mLガラスびん 3本
- ⑩練習の水捨て用ポリプロピレンビーカー 1個
- ⑪アミラーゼ酵素水溶液の入った1.5mLチューブ (例題用) 1本
- ⑫1.5 mLチューブ 10本 (例題用)
- ⑬チューブラック 1個
- ⑭48穴 セルプレート 1枚
- ⑮マーク付き白紙 (セルプレートの下にしいて溶液の色を見やすくするもの) 3枚
- ⑯ライト (セルプレートの下から照らして溶液の色を見やすくするもの) 1個
- ⑰ライトカバーケース 1個
- ⑱空の20mLガラスびん (用途自由) 1本
- ⑲油性ペン (チューブ、ガラスびん、セルプレートへの目印記入用) 1本
- ⑳シール (チューブ、ガラスびん、セルプレートへの目印記入用) 1枚
- ㉑ストップウォッチ 1個
- ㉒デジタルカメラ 1台
- ㉓セロハンテープ 1台
- ㉔紙タオル 1箱
- ㉕メモ用紙 4枚
- ㉖白衣 (M 2着、L 1着)
- ㉗保護めがね 3個

＜各自で持ってきた道具で使えるもの＞

- 筆記用具

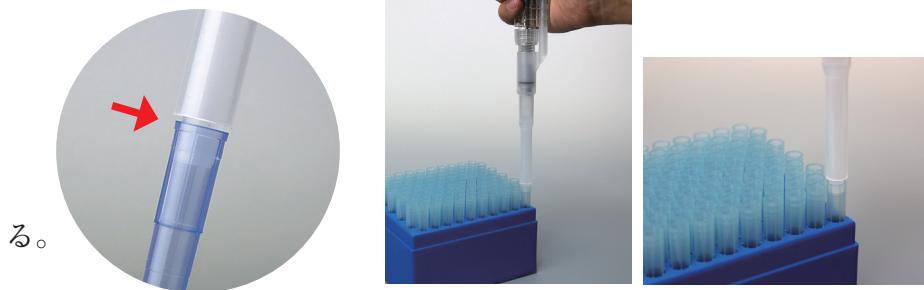
＜例題終了後に配付されるもの＞

- ⑧濃度がわからないアミラーゼ酵素水溶液（問題用）（20 mL ガラスびん） 3 本
 - ⑨純水が入った 20mL ガラスびん 1 本
 - ⑩1.5 mL チューブ 20 本（問題用）
 - ⑪48 穴 セルプレート 3 枚（問題用）
 - ⑫チューブラック 1 個
- ※ 必要となる物品は、白色のバット（かご）の中に入れてある。
- ※ 終了後も残った物品は、白色のバット（かご）の中に入れておくこと。

マイクロピペットの使い方

ビーカーの中の水を吸い上げたり、はき出したりしてみよう。

- ① 一人1本、マイクロピペットを持つ。
マイクロピペットの先にチップをつける。



- ② マイクロピペットのつまみを回して、目盛りを「100」に合わせる。



- ③ プッシュロッドを押して、第1ストップと第2ストップの位置を確認する。



【注意事項】

- ① 第2ストップまで押して吸い上げてしまうと、設定したものよりも多く吸い上げてしまう。
- ② 空気を吸い込まないように、チップの先が液面からはなれないように注意する。
- ③ マイクロピペットのチップに溶液を吸い上げた状態で、マイクロピペットを横や逆さにしないこと。

吸い上げ方

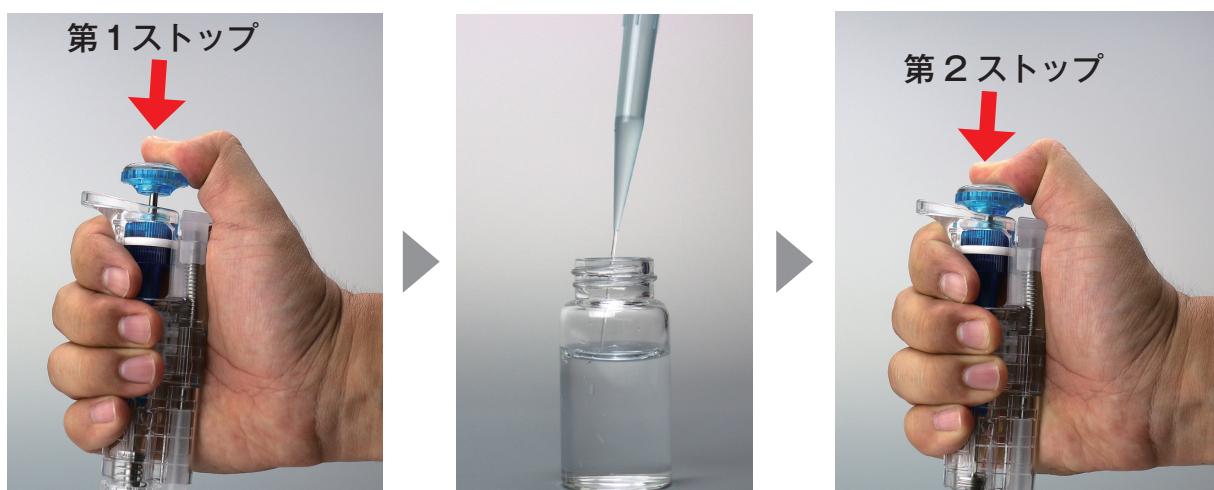
- ④ プッシュロッドを第1ストップまで押した状態でチップの先を水につけ、ゆっくりとプッシュロッドを押させていた指をもどして、吸い上げる。



※プッシュロッドを押させていた指を勢い良く戻すと、正確に吸い上げることができないことがある。

はき出し方

- ⑤ ゆっくりと第1ストップまで押し、液を出し、さらに第2ストップまで押して、チップ内の液を完全に出す。



- ⑥ チップを外す。



チップ回収カップの中に入れる。

チップイジェクターボタンを押して外す。手でつまんで外してもよい。

【例題】

例題1 (希釈のしかた)

希釈をして濃度のちがうデンプン溶液を作る

デンプン原液 (1倍) → 10倍希釈液, 100倍希釈液



例題2 (濃度による色のちがい)

ヨウ素デンプン反応の色のちがいを確認する

10倍希釈, 100倍希釈のデンプン溶液にヨウ素を入れて, 反応の色のちがいを確認する。



例題3 (消化反応の確認)

アミラーゼ酵素液でデンプンを消化させる

デンプン溶液にアミラーゼ酵素液を入れたものと, 入れないものを用意して, ヨウ素を入れて反応の色のちがいを確認する。



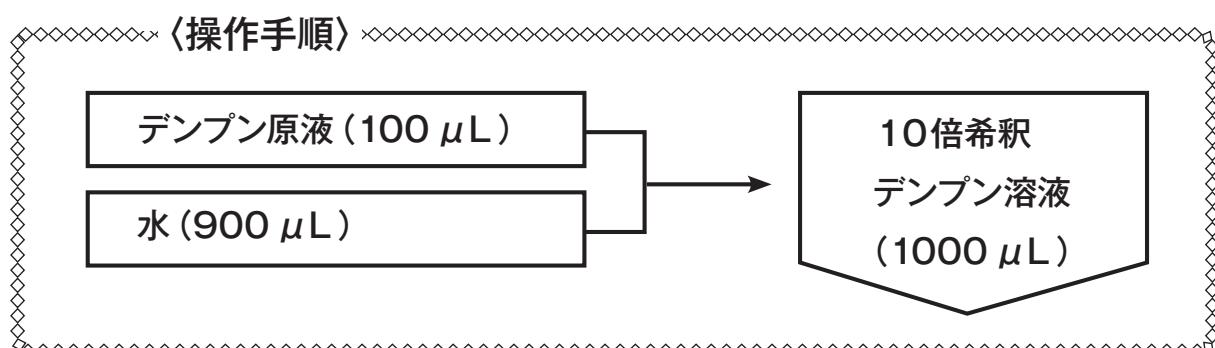
例題1：希釈をして濃度のちがうデンプン溶液を作る

10倍希釈、100倍希釈のデンプン溶液を作る。

ふたに「10」、「100」の印がついた
1.5 mLチューブを使う。



(1) 10倍希釈のデンプン溶液(1000 μL)を作る



デンプン原液を $100 \mu\text{L}$ 量り取る。

- ① オレンジのマイクロピペットの目盛りを「100」にセットする。これで $100\ \mu\text{L}$ 量り取ることができる。

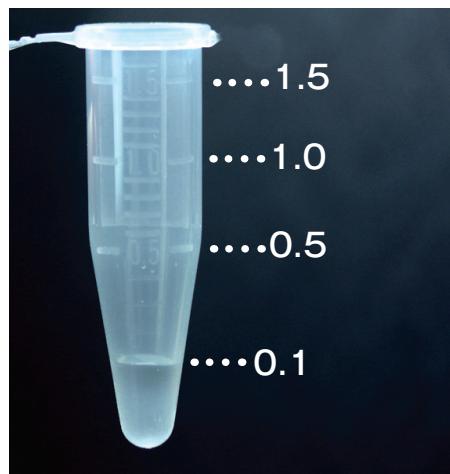


- ② デンプン原液 100 μ Lを、「10」印の 1.5 mL チューブに入れる。



- ③ 1.5 mL チューブの 0.1 の目盛りまで入っていることを確認する。

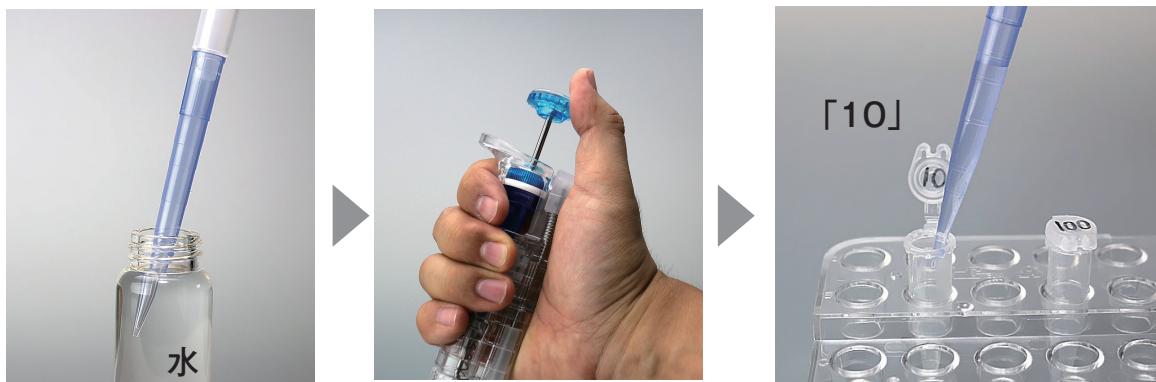
- ④ チップを外す。



水を900 μ Lを量り取る。

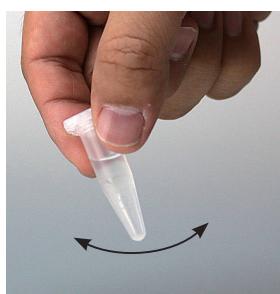
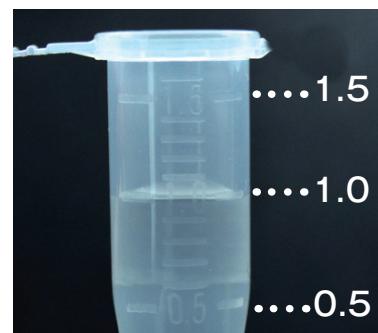
- ⑤ ブルーのマイクロピペットの目盛りを「90」にセットする。
これで900 μ L量り取ることができる。

- ⑥ 水 900 μ Lを、「10」印の 1.5 mL チューブに入れる。



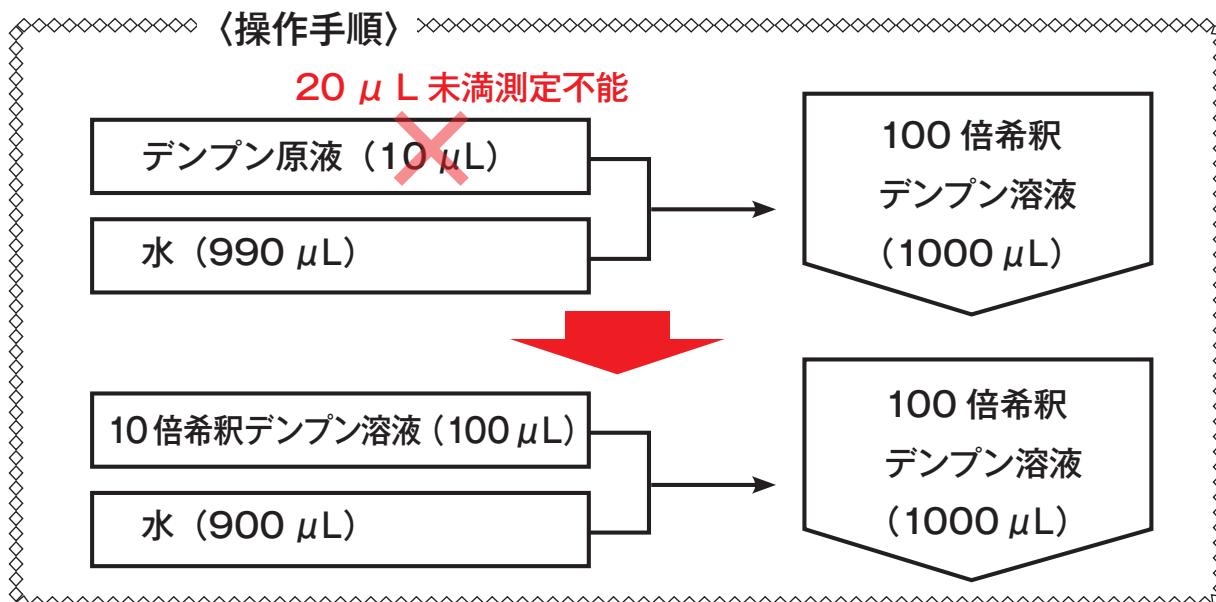
- ⑦ 1.5 mL チューブの 1.0 の目盛りまで入っていることを確認する。

- ⑧ チップを外す。



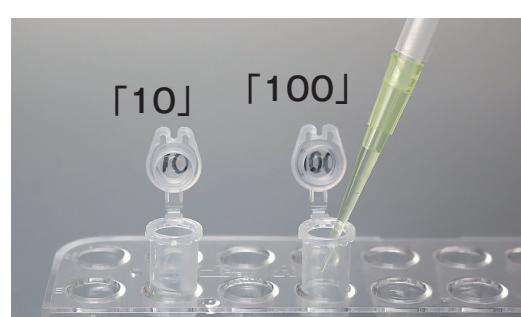
- ⑨ 1.5 mL チューブのふたをして振って混ぜる。

(2) 100 倍希釈のデンプン溶液 (1000 μ L) を作る

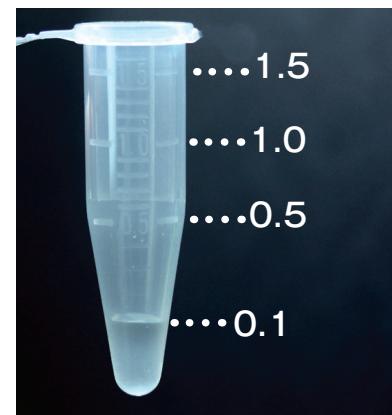


10倍のデンプン溶液を 100 μ L 量り取る。

- ① オレンジのマイクロピペットの目盛りを「100」にセットする。
これで $100 \mu\text{L}$ 量り取ることができる。
 - ② 10倍希釀のデンプン溶液 $100 \mu\text{L}$ を、「100」の印の 1.5 mL チューブに入れる。



1.5mLチューブの0.1の目盛りまで入っていることを確認する。

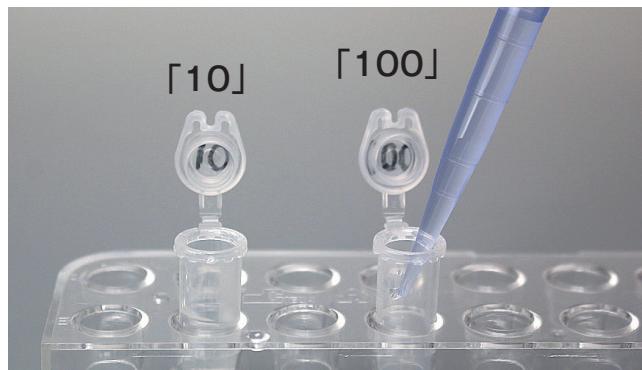


水を900 μ Lを量り取る。

- ③ ブルーのマイクロピペットの目盛りを「0 9 0」にセットする。
これで900 μ L量り取ることができる。

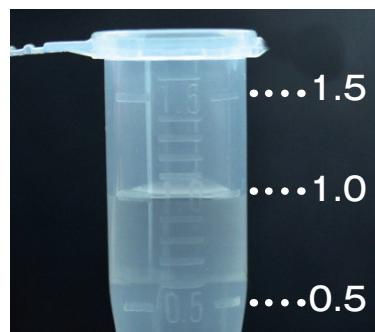


- ④ 水900 μ Lを、「100」印の1.5mLチューブに入れる。

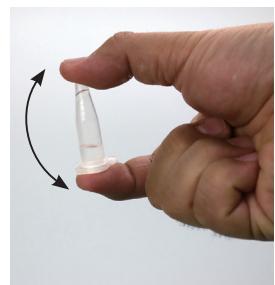
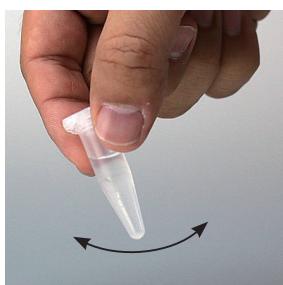


- ⑤ 1.5mLチューブの1.0の目盛りまで入っていることを確認する。

- ⑥ チップを外す。



- ⑦ 1.5mLチューブのふたをして振って混ぜる。



10倍希釈、100倍希釈の2種類の濃度のちがうデンプン溶液の完成。

例題2：ヨウ素デンプン反応の色のちがいを確認する

10倍希釈、100倍希釈のデンプン溶液にヨウ素を入れて、反応の色のちがいを確認する。

操作手順

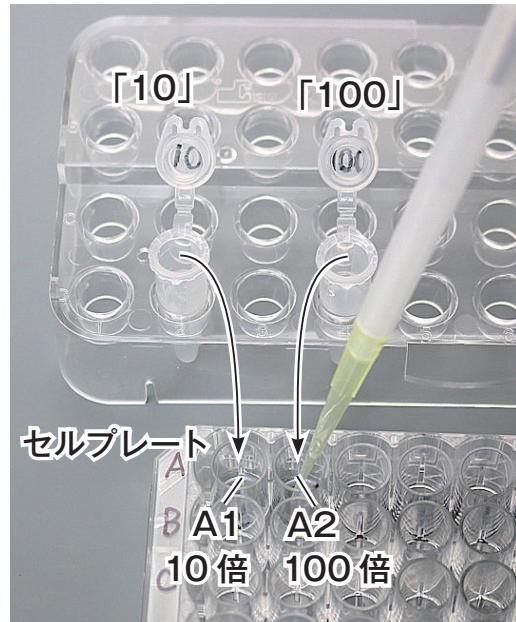
```

graph LR
    A[10倍希釈デンプン溶液 200 μL] --- B[ヨウ素液 20 μL]
    B --> C[反応観察]
    D[100倍希釈デンプン溶液 200 μL] --- E[ヨウ素液 20 μL]
    E --> F[反応観察]
  
```

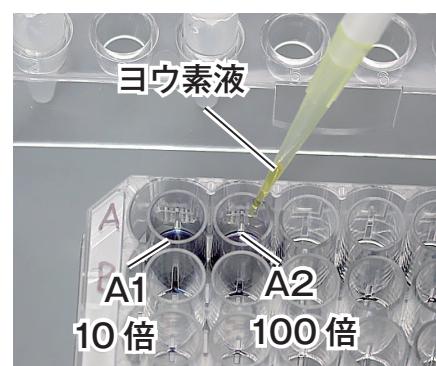
- ① 2種類の濃度のちがうデンプン溶液を、オレンジのマイクロピペットで、
200 μ Lずつ量り取って、
セルプレートの
A1に「10倍希釀」、
A2に「100倍希釀」を
入れる。



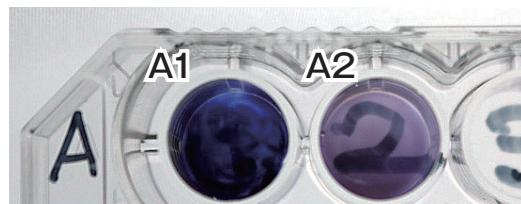
デンプン溶液の濃度が変わるとときは必ずチップを変える。



- ② ①のそれぞれに、オレンジのマイクロピペットで、ヨウ素液を $20\ \mu\text{L}$ ずつ入れる。



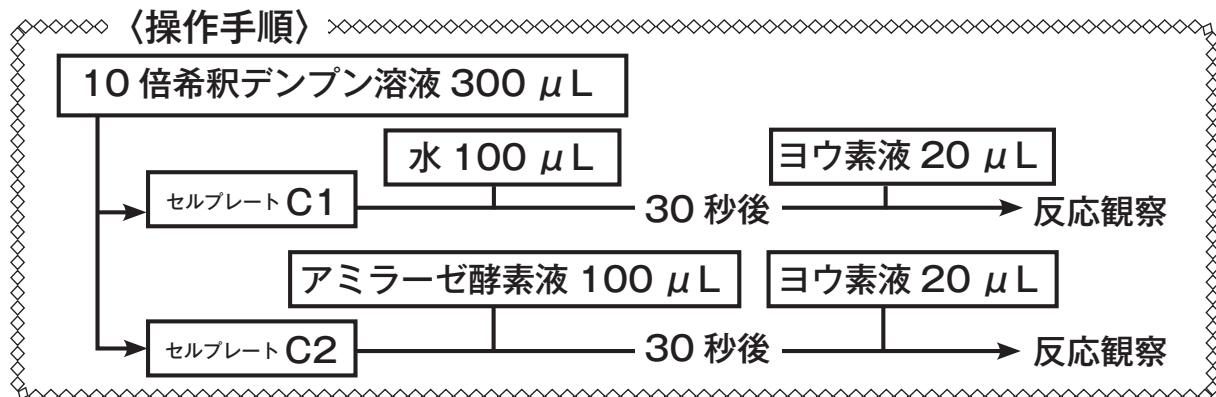
- ③ ヨウ素デンプン反応後の色のちがいを観察する。



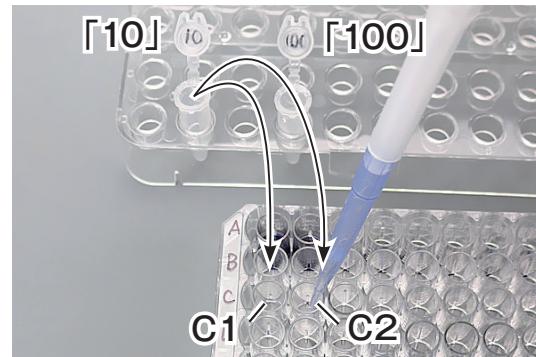
10 倍稀釀 100 倍稀釀

例題3：アミラーゼ酵素液でデンプンを消化させる

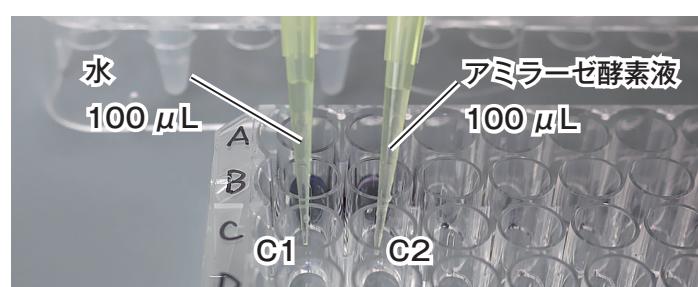
デンプン溶液にアミラーゼ酵素液を入れたものと、入れないものを用意して、ヨウ素を入れて反応の色のちがいを確認する。



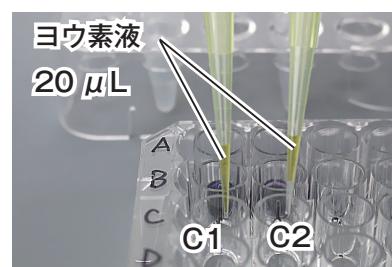
- ① 10倍に希釈したデンプン溶液を、
ブルーのマイクロピペットで
300 μ Lずつ量り取って、
セルプレートの
C1 と C2 に
それぞれ入れる。



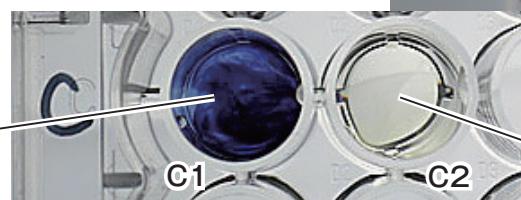
- ② 2本のオレンジのマイクロピペットで、水 $100 \mu\text{L}$ 、アミラーゼ酵素液 $100 \mu\text{L}$ を量り取り、水を C1 に、アミラーゼ酵素液を C2 に、同時に入れる。入れると同時にストップウォッチで時間をかかる。



- ③ 30秒後、2本のオレンジのマイクロピペットで、ヨウ素液 20 μ L量り取り、2つのセルに同時に入れる。



- ④ ヨウ素デンプン反応後の色のちがいを観察する。



アミラーゼ酵素液
なし

アミラーゼ酵素液
あり