

指導資料



鹿児島県総合教育センター

理科 第240号

- 中，高等学校，盲・聾・養護学校対象 -
平成15年11月発行

微生物による化学反応

「耳を澄ませば，かめの中から音が聞こえてきますよ。」これは，焼酎工場を見学したときの説明の一コマである。



写真1 焼酎づくり

生物は，呼吸によって有機物を分解し，エネルギーを得ている。呼吸は一般に酸素を消費するが，コウボやカビ，細菌類などの微生物は，無酸素状態でも呼吸ができる。このとき生成する物質が人間に有用な場合を発酵，有毒な場合を腐敗という。味噌，しょう油，酒などの発酵食品は，私たちの生活を豊かにしてきたが，身近なものとして，鹿児島県の伝統産業である焼酎や黒酢などが挙げられる。

高等学校理科では，理科総合Aで微生物の働きを用いた食材料や医薬品，化学 や生物 で酵素反応を取り扱うが，これらを化学反応として理解させる観察，実験は少ない。

そこで，ドライイーストとして手軽に入手できるコウボを用いてアルコール発酵を行い，

生徒が微生物の働きを化学反応としてとらえることができ，中学校の選択理科でも発酵という観点から興味・関心をもって取り組むことができる簡単な実験を紹介する。

1 酵素反応について

発酵には，微生物の体内にある酵素が触媒としてかかわっている。酵素が働く物質を基質といい，酵素は，特定の基質にのみ触媒として働く。また，酵素をつくるタンパク質が熱や酸・アルカリなどで変化すると触媒としての働きを失う。

表1 主な酵素と基質及び生成物

酵素	基質	生成物
アミラーゼ	デンプン	マルトース
マルターゼ	マルトース	グルコース
スクラーゼ	スクロース	グルコース，フルクトース
チマーゼ	グルコース	エタノール，二酸化炭素

コウボは，体内にある酵素チマーゼにより，グルコースをエタノールと二酸化炭素に分解する。これをアルコール発酵という。

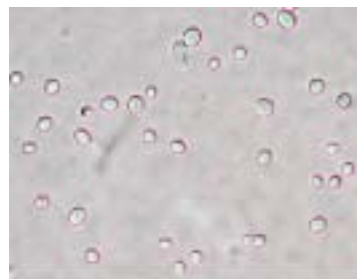
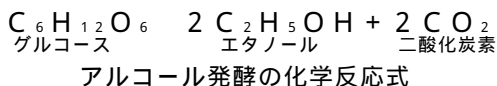


写真2 コウボ (600倍)



そこで、生じる二酸化炭素の発生量を調べることにより、基質や温度、pH などの違いによる酵素の働きを調べることができる。

2 アルコール発酵の測定装置

アルコール発酵は、無酸素状態で行われるので、空気抜きが容易にできるガラス製注射器を用いた。このガラス製注射器はディスプレイ注射器（プラスチック製）に比べ、ピストンとシリンダ間の摩擦が小さいので発生する二酸化炭素量を正確に測定でき、耐熱性であるので温度による違いを調べやすいなどのメリットがある。

コウボには、ドライイーストを用いた。ドライイーストは、食料品店で手軽に入手できる。



写真3 ドライイースト

[操作方法]

基質溶液とドライイーストを注射器に入れる。

シリンダ内の空気を抜き、液漏れしないように針先にゴム栓を付ける。

針先を下に向け、写真4のように三角フラスコ等で固定し、測定する。



写真4 測定装置

アルコール発酵が行われたことを確認するために、エタノールはヨードホルム反応で、二酸化炭素は石灰水の白濁で検出する。

[エタノールの検出] - ヨードホルム反応 -

発酵後の液をろ過し、ろ液 5 ml に 2 mol/L 水酸化ナトリウム水溶液 2 ml を加える。

70 ~ 80 の湯で 2 ~ 3 分温める。

濃いヨウ素液を、液が褐色から薄い黄色になるまで加える。

ヨードホルム特有のにおいからエタノールの生成を確認する。



写真5 ヨードホルム反応

[二酸化炭素の検出]

注射器内の気体を、ゴム管を付けた別の注射器で吸い込む。

石灰水を吸い込み、石灰水の白濁から二酸化炭素を確認する。



写真6 石灰水の白濁

3 各条件における酵素反応

【実験1】基質の違いによる反応速度

準備 10%の各基質溶液10ml

ドライイースト0.5g、温度45

結果

表2 基質と二酸化炭素発生量(ml)

基質\時間(分)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
グルコース	3	4	5	7	9	13	14	17	19	21
スクロース	2	3	4	5	8	10	12	14	16	19
マルトース	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ラクトース	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
デンプン	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

考察

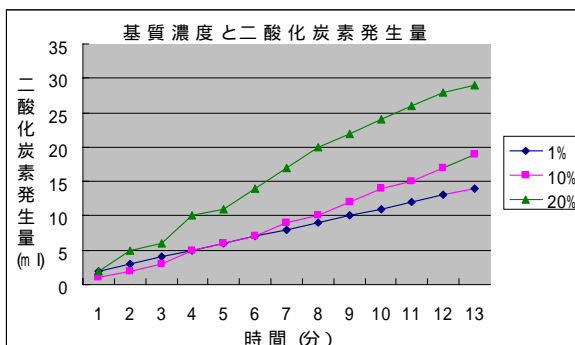
コウボは、グルコースを基質に用いたときに反応する。マルトース、ラクトース、デンプンとは反応しないことから、酵素の基質特異性を理解することができる。ただし、スクロースに対して反応が見られるのは、コウボがスクロースを分解する酵素をもつためと考えられる。

【実験2】基質濃度の違いによる反応速度

準備 各濃度のグルコース溶液10ml

ドライイースト0.5g、温度45

結果



考察

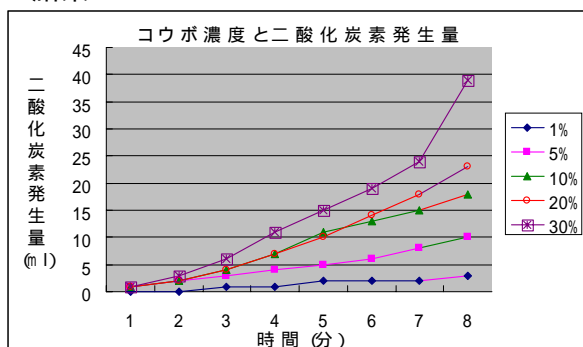
酵素反応は、化学反応の一つである。化学

反応は、濃度が高いほど反応速度も速くなる。酵素反応においても、基質濃度が高いほど反応速度が速くなることが分かる。

【実験3】酵素濃度の違いによる反応速度

準備 20%グルコース溶液10ml
ドライイースト0.5g, 温度45

結果



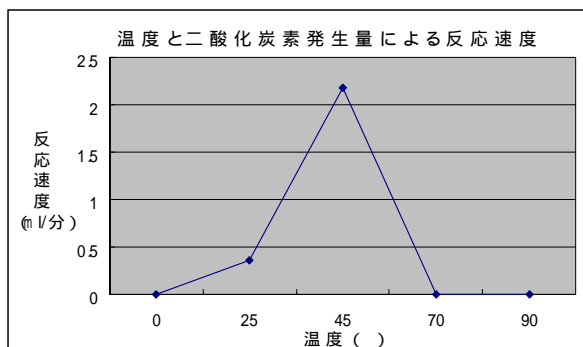
考察

酵素は、触媒として働いている。酵素濃度が高いほど反応物の接触面積が広がるため、反応速度が速くなることが分かる。

【実験4】温度の違いによる反応速度

準備 30%グルコース溶液10ml
ドライイースト0.5g

結果



考察

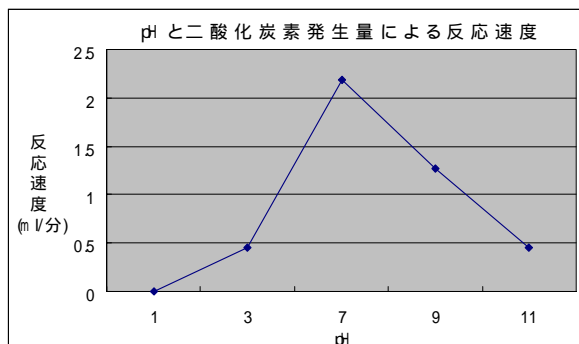
化学反応では、一般に温度を上げると反応速度が速くなる。しかし、酵素反応では、45度付近で反応速度が最も速くなる。このように反応速度が最大となる温度を最適温度という。また、高温では、酵素をつくるタンパク質が、熱による変性により触媒としての働き

を失っている。(これを失活という。)

【実験5】pHの違いによる反応速度

準備 30%グルコース溶液10ml
ドライイースト0.5g, 温度45

結果



考察

pHが7付近で反応速度が最も速くなっていることが分かる。このように反応速度が最大となるpHを最適pHという。一般に、酵素を構成するタンパク質は、酸や塩基によって変性するため反応速度が小さくなる。

4 酵素反応における量的関係

コウボは、グルコースを消費し分解することにより二酸化炭素を生成している。そこで、グルコースの消費量と二酸化炭素の発生量を比較することにより両者の量的関係を求め、酵素反応を化学反応としてとらえることができる。グルコースの消費量は、屈折糖度計を用いて測定する。



写真7 屈折糖度計

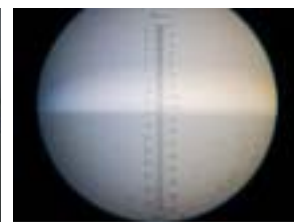


写真8 糖度の測定

さらに、糖度計でグルコースの消費量を観察しやすくするため、グルコース量を増やす。20%のグルコース溶液200mlにコウボ20gを反

応させたので、二酸化炭素発生量の測定には、1 Lメスシリンダーを用いた水上置換で行う。反応容器には、300ml三角フラスコを用い、激しい反応による泡の盛り上がりを防ぐため、マグネチックスターラーで搅拌する。

準備 20%グルコース溶液200ml
ドライイースト20g, 温度45

方法

グルコース溶液とコウボを三角フラスコに入れ、無酸素状態にするため二酸化炭素を吹き込む。

10分ごとに糖度と二酸化炭素発生量を測定する。駒込ピペット(1ml)を用いて吸い取った溶液をろ過し、ろ液中の糖度を測定する。

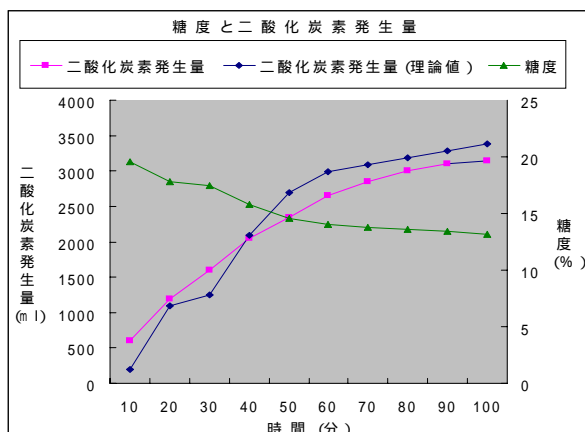


写真9 測定装置

結果

糖度と二酸化炭素発生量を下表に示す。前述(1ページ参照)の化学反応式より、消費したグルコースの2倍の物質質量(mol)の二酸化炭素が発生することになるので理論値として示す。

時間 (分)	グルコース		二酸化炭素		
	糖度 (%)	消費物質 質量 (mol)	発生量 (ml)	物質 質量 (mol)	理論 値 (ml)
0	20.0	-	-	-	-
10	19.6	0.4	600	2.7	199
20	17.8	2.4	1200	5.4	1095
30	17.5	2.8	1600	7.1	1244
40	15.8	4.7	2050	9.2	2091
50	14.6	6.0	2350	10.5	2688
60	14.0	6.7	2650	11.8	2987
70	13.8	6.9	2850	12.7	3086
80	13.6	7.1	3000	13.4	3186
90	13.4	7.3	3100	13.8	3285
100	13.2	7.6	3150	14.1	3385



考察

グルコースの減少とともに、二酸化炭素の発生量が増加していることから、グルコースを分解し二酸化炭素を生成するコウボの働きを理解できる。さらに、発生した二酸化炭素の実測値が理論値とほぼ一致し、グルコースと二酸化炭素の物質質量(mol)の関係が、およそ1:2になることから、酵素反応が化学反応の一つであることに気付く。

量的関係を調べる実験では、激しい反応とともに二酸化炭素の泡が音を立てて発生する。冒頭の「耳を澄ませば、かめの中から音が聞こえてくる」ことを実感できる。

今回の観察、実験を通して、呼吸という生命を維持する反応は、全体としては簡単な化学反応であるということが理解できる。このような観察、実験を課題研究や理科総合Aにおいて行うならば、微生物の働きを用いた化学の成果が食材料や医薬品など日常生活に役立っていることを理解し、化学をもっと身近なものに感じることができよう。

【参考文献】

文部省『高等学校学習指導要領解説 理科編
理数科編』平成11年12月 大日本図書
(第二研修室)