

光合成にかかわる実験の問題点

—インジゴカーミン法の検討—

松田 司

中学校理科の光合成にかかわる実験の中で、酸素の発生を確かめるインジゴカーミン法の問題点について取り上げ、植物体の事前処理やインジゴカーミンに加えるヒドロサルファイトナトリウムの量を考慮した実験について検討した。

[キーワード] 中学校理科 生物 光合成 インジゴカーミン オオカナダモ

はじめに

光合成にかかわる実験については、これまでにさまざまな工夫や検討が加えられてきており、気泡計算法、酸素検出法、pH測定法、ヨウ素試験法、酸素センサーを用いた計測法などが広く実践されている。当理科教育センターの通常研修講座中学校第2分野においても、上記の方法を改善しながら、講習に参加された先生方と実験を重ね、検討を加えているところである。

光合成による酸素の発生を確かめる酸素検出法の観察、実験については、インジゴカーミン法が多くの学校で取り上げられている。インジゴカーミン法は、還元と酸化によって起こるインジゴカーミンの発色の違いを利用するもので、還元剤としてはヒドロサルファイトを用いる。

この方法は、水生植物ばかりでなく陸生植物を用いても、葉の表面の水溶液が無色から青色に変化していくのが短時間で確認できる。このため、生徒も理解しやすく中学校で行うには優れた方法と言えるが、問題点もあるので検討してみた。

1 インジゴカーミン法の問題点

試験管にオオカナダモを入れて行う実験では、同時に対照実験（アルミホイルで試験管を覆い光が当たらないようにする）を行うと、光を照射した実験と対照実験に差が現われず、光を照射したことによって酸素が発生したとは言えなくなるような結果が出るものがしばしばある。

これは、植物を急に暗い状態にしても植物体からかなりの量の酸素が溶出していると考えられるからである。ウインクラ法などを用いた測定によると、植物体から溶出する酸素の量は、弱光下であっても気泡として確認される酸素の量より2～5倍も多いという結果もあり、光合成によって発生した酸素を確かめることはなかなか難しいことになる。

この問題を検討するため、還元剤として用いるヒドロサルファイトナトリウムの量や、実験に用いる植物体を事前に暗処理する等の条件を加えて再度実験を行ってみた。

2 実験

(1) 準備

0.03%インジゴカーミン溶液、2%ヒドロサルファイトナトリウム水溶液、炭酸水素ナトリウム（二酸化炭素緩衝用）、ワセリン、ゴム栓、スポイト、試験管（径18mm）、ピーカー、光源、食品用アルミホイル、オオカナダモ

(2) 方法

ア 炭酸水素ナトリウム 0.8gを加えたインジゴカーミン溶液 200mlに、ヒドロサルファイトナトリウム水溶液を 400ml加え還元し、青色を無色に変える。同様に、ヒドロサルファイトナトリウム水溶液を 450ml加えたものを用意する。

イ 無色に調整した溶液をすばやく4本の試験管にとり、暗処理していないオオカナダモを

北海道立理科教育センター

- 入れ、ワセリンを塗ったゴム栓をする。
- ウ 試験管の2本をアルミホイルで覆い対照実験用とする。
- エ 試験管に光を当て溶液の色の変化を観察する。
- オ 暗処理したオオカナダモを用いて同様に実験をする。

3 結果

(1) 暗処理しないオオカナダモを用いたとき

ハイドロサルファイト	実験区	色 変	対照区	色 変
400 cm ³	A	+	a	-
450 cm ³	B	+	b	-

(+青変, -変化無し:水温25℃, 15000Lx, 20分照射)

(2) 暗処理(40分)したオオカナダモを用いたとき

ハイドロサルファイト	実験区	色 変	対照区	色 変
400 cm ³	A	+	a	-
450 cm ³	B	+	b	-

(+青変, -変化無し:水温25℃, 15000Lx, 20分照射)

4 考察

(1) 結果(1), (2)からわかるように、今回の方法で行った実験では対照区が特に問題となるようなことは無かった。

ただし、オオカナダモを試験管に埋め込むまでに要する時間を長くしたり、ハイドロサルファイトで調整した水溶液をすみやかに使用しなかったときには、インジゴカーミンの酸化と還元平衡が急にくずれ対照区と実験区が同じ結果になることが容易に起きた。

このため、この実験を行うときには、オオカナダモを試験管に封入するまでの素早い処理が必要となる。

(2) 暗処理したものと、そうでないものとを比べた場合も問題は無かった。植物の活性状態や植物体から溶出する酸素の量を考慮すれば、インジゴカーミン法を用いて酸素の検出をするときには、植物体を暗処理する方がより正

確な実験ができると考えられる。

(3) この実験では、光合成によって発生する酸素と植物体から溶出する酸素の両方が酸化にかかわっていると考えられる。オオカナダモから出る気泡に含まれる酸素はどの程度の濃度になるか酸素センサーを用いて計測してみると次の図のようになる。

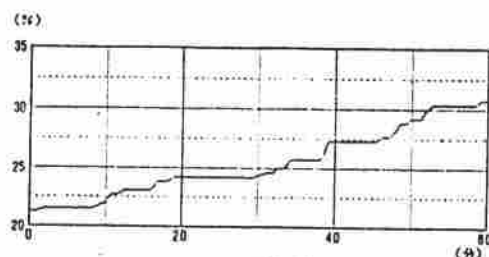


図 光合成による酸素濃度の変化

(水温30℃, オオカナダモ20cm×3, 1500Lx, 0.4%NaHCO₃, 水槽)

(4) 中学校では、発生する気泡を多量に集め、この気体が酸素であるかどうかを確かめるためにマッチや線香の燃えさしを用いる。この実験では線香の炎が大きく燃え上がるということはまれである。それは気泡に含まれる酸素の濃度に問題があるからである。試験管などを用いて炎を燃え上がらせるには酸素濃度が60%を越える必要がある。

一方、植物から出される気泡の酸素濃度は水に対する酸素と窒素の溶解度の違いや酸素センサーによる測定などから約30~50%で、残りはほとんどが窒素であることがわかっている。気泡中の窒素を極力少なくするためには、植物体の気道中の気体を追い出し、煮沸、冷却した水中で実験を行うとよいことが確かめられているが、中学校の実験でそこまでするのは困難が多いと考えられる。

参考文献

- (1) 降幡高志(1994): ヒル反応の測定 誌48-6
- (2) 松田司(1994): 酸素センサーを用いた光合成や呼吸の計測 理科教育指導資料第26集

(まつだ つかさ 生物研究室研究員)