

光合成の実験とデンプンの観察

オオカナダモを用いた光合成の実験

植物の基本代謝は光合成です。植物は光のエネルギーを利用して、二酸化炭素と水から炭水化物（ブドウ糖 $C_6H_{12}O_6$ ）を生成し、その過程の中で酸素を発生します。化学反応式では、 $6CO_2 + 12H_2O + \text{光エネルギー} \rightarrow C_6H_{12}O_6 + 6H_2O + 6O_2$ で示されます。光合成は複雑な過程ですが、大きく 2 つの反応過程に分けられます。最初の過程は、光エネルギーを化学エネルギーに変換する反応で、葉緑体のチラコイド膜で行われます。光エネルギーを化学エネルギー（ATP）に変換する過程で水が分解され、廃棄物として酸素を発生します。この過程は光に関係していることから**明反応**といいます。次の過程は葉緑体のストロマで行われます。気孔から取り込まれた大気中の二酸化炭素を明反応で変換された化学エネルギー（ATP）を使ってブドウ糖に変換します。この過程を**カルビン回路**といいます。本実習では、オオカナダモを使い、植物が光合成をしていることを実験によって確かめます。また、気泡の数を数えて「光の強さと光合成の関係」のグラフを描き、実験結果を科学的に検証します。各実験手順は何のために行っているのか、BTB 溶液の色の变化から何が分かったかがポイントです。定番の実験ですが、「気泡が出ない」、「光源の距離を変えても結果は変わらない」などのトラブルが頻繁に起こります。皆さんが将来この実験を行うためには、失敗しないためのポイントを学ぶ必要もあります。

用意するもの

オオカナダモ、試験管（2本）、200 ml ビーカー（各班 1 個）、ピンセット（人数分）、両刃カミソリ（各班 1 枚）、パラフィルム（サランラップでも可）、ものさし（各班 1 台）、照度計（各班 1 台）、光源（ライトスタンド各班 1 台）、ストロー（各班 1 本）、時計、BTB 溶液、グラフ用紙（人数分）

*BTB 溶液（ブロムチモールブルー溶液）：溶液中の pH によって色が変わる試薬。

BTB 溶液色と pH の関係の目安…酸性：黄色，中性：緑色，アルカリ性：青色。

*この実験は材料の状態によって全てが左右されます。オオカナダモは、出来る限り元気なものを使います。オオカナダモは丈夫な水草なので、ほおっておいても枯れることはありませんが、条件が悪くないと白っぽくなり、光合成の活性が悪くなってしまいます。水温は、オオカナダモが光合成を行うのに最適な $25^{\circ}C$ 前後、二酸化炭素が十分に供給された水槽で栽培すると良いでしょう。また、窒素源の確保のためにメダカなどを一緒に飼うのもおすすめです。

実験手順

1. 200 ml ビーカーに水を約 150 ml 入れ、BTB 溶液を約 40 滴たらし、水の色が何色か確認します。

水の色：_____色 従って水道水は_____性

2. 水の色が緑色になるまでストローで呼気を吹き込みます（約 1 分）。

水の色が変わったのは、呼気に_____が含まれているから

* 二酸化炭素は水に溶けると酸性を示す

3. 2 本の試験管にビーカーの水を入れます。水の色が不明瞭な時は、BTB 溶液をさらに数滴加えます。

* この時、水温を一定に保つため、スタンドを使い試験管を水の入ったビーカーに入れることが望ましい。

2 本の試験管の水の色は_____色

4. オオカナダモの茎の基部をカミソリで斜めに切断し、切り口を上にして片方の試験管に入れます。切り口と水面までの間が 3~5 cm 位になるようにします。

* 切断する角度が鋭くなると気泡が小さくなる傾向があります。細かい泡がたくさん発生し、計測しづらい場合は角度を鈍く、逆に気泡が出にくい時は、鋭角に切ります。

5. 両方の試験管の口をパラフィルムで密封します。

6. 両方の試験管を光源から 10 cm の位置に置きます。

7. 部屋を暗くし、光源のスイッチを ON にし、光を当てる。水草の切断面から気泡が出るのを確認します。

この気泡には約 50~70%の窒素と、約 30-50%の_____が含まれています。

8. 気泡が規則正しく出るようになったら、時計で 5 分間計測し、5 分間に出た気泡の数を数えます。

* 気泡の出が悪い時は、1 個の気泡を放出するのにかかった時間を計測し、それを 5 分間に換算するか、相対速度を求めます。相対速度は 1 個の気泡を放出するのにかかった時間に反比例するので、以下の式で求めます。

相対速度 = 1/1 個の気泡を放出するのにかかった時間

小数点があると見づらいため、値を 1000 倍し、単位を $\times 10^{-3}$ とします。

例. 1 個の気泡を放出するのに 40 秒かかった場合

$$\text{光合成の相対速度} = 1/40 \times 1000 = 25 \times 10^{-3}$$

9. 光源と試験管との距離を 10 cm ずつ遠ざけ、それぞれの距離での照度（光の明るさ）

を照度計で測定した後、手順 8 と同様に気泡の数を数えます。

*照度計が無い場合は、距離を基に光の相対強度を求めます。光の相対強度は、距離の 2 乗に反比例するため、以下の式で求めます。

$$\text{光の相対強度} = 1 / (\text{距離})^2$$

小数点があると見づらいため、値を 10000 倍し、単位を $\times 10^{-4}$ とします。

例. 距離 10 cm の時の光の相対強度

$$\text{光の相対強度} = 1 / (10)^2 \times 10000 = 100 \times 10^{-4}$$

10. 手順 8, 9 の結果を表にまとめます。

試験管と光源との距離	40 cm	30 cm	20 cm	10 cm
照度 (lux) 又は光の相対強度				
気泡の数又は光合成の相対速度				

11. 全ての測定が終了後、試験管の水の色を確認します。

オオカナダモ入り： _____ 色， オオカナダモなし： _____ 色

12. BTB 溶液を入れた試験管を 2 本用意し、片方の試験管にオオカナダモを入れ、前の晩から暗所に静地しました。試験管の水の色は何色でしょうか。

オオカナダモ入り： _____ 色， オオカナダモなし： _____ 色

13. 手順 10 で作成した表を基に光の強さと光合成の関係を示したグラフを書きましょう。X 軸には照度又は光の相対強度、Y 軸には気泡の数又は光合成の相対速度をとります。

* 対照実験とは

本実験では、オオカナダモを入れたものと、入れていないものと必ず 2 本の試験管を用意しています。BTB 溶液の色の変化がオオカナダモの光合成あるいは呼吸によって変化したものであることを証明するためです。ある条件以外は全く同じ実験条件にして実験を行い、両者を比べることを対照実験といい、科学実験の基本です。結果があらかじめ分かっている実験条件（本実験ではオオカナダモの入っていない試験管）のことを対照またはコントロールといいます。

オオカナダモの同化デンプンの観察

光合成の結果生成されたブドウ糖は、葉緑体の中でデンプン分子の形にかえられま

す。これを**同化デンプン**といいます。緑色植物は同化デンプンを葉緑体の中に生成します。十分に光合成をさせたオオカナダモの葉をヨウ素液（ヨウ素ヨウ化カリウム溶液）で染めると葉緑体中の同化デンプンが青紫色に染まります。これを**ヨウ素デンプン反応**といいます。デンプンはグルコース（ $C_6H_{12}O_6$ ）がらせん状に配列した構造をしています。このらせん構造の内部に赤紫色のヨウ素分子（ I_2 ）が入り込んで結合すると、デンプンが青紫色に染まります。オオカナダモの葉でヨウ素デンプン反応によって同化デンプンを観察するには、葉を熱湯に漬けた後、エタノールで湯煎します。これは、葉緑体中のクロロフィルやカロテノイドなどの光合成色素を溶出させ、同化デンプンを観察しやすくするためです。この観察は、中学校では定番の実習ですが、事前の準備や試薬の調整が正しく出来ていないと、失敗することが少なくありません。皆さん自身がこの実習を行う時は、事前に何度か実験をしてコツをつかんでおく必要があるでしょう。

用意するもの

ピンセット（人数分）、スライドグラス（人数分）、カバーグラス（人数分）ティッシュペーパー（キムワイプ）（一班当たり1箱）、エタノール、熱湯、ヨウ素液（100%の濃度で使うと濃すぎるため、使う前に水道水で50%以下に薄める）

注意！：ヨウ素ヨウ化カリウム溶液は、ヨードチンキやイソジンなどの名前であいがい薬などの医薬品として使われています。すなわち、少量ならば人体にほとんど影響はないのですが、毒性があり、大量に消化器系や甲状腺に悪影響を与えることがあります。小児の誤飲事故に注意する必要があります。

事前準備

光合成の実験に用いたオオカナダモを用いても良いのですが、ヨウ素デンプン反応を行うには光合成が不十分なことが多く、事前に十分に光合成をさせた材料を用意します。最も元気なオオカナダモを選び、実習を始める1時間位前にオオカナダモに光を当て、光合成をさせます。光合成には光だけでなく、二酸化炭素濃度と温度が重要です。オオカナダモは、水温が高くなると光合成活性が低くなるので、大きめのビーカーなどに入れ、光を当てる時は光源を近づけすぎないように注意します。次に、光合成に必要な二酸化炭素を供給するためストローで息を吹き込みます。息を吹き込む代わりに炭酸水素カリウム（ $KHCO_3$ ）や炭酸水素ナトリウム（ $NaHCO_3$ ）又は水草飼育用に市販されている二酸化炭素添加剤を入れてもOKです。

観察手順

1. 十分に光合成をさせたオオカナダモを熱湯に 30 秒ほど漬けます。
2. 葉を一枚ちぎり、温めたエタノールに葉が白くなるまで漬けます。
*1 の手順は省いても構わないようです。本実習では、念のため両方行います。
注意！：エタノールには引火性と爆発性があるので、温める際、直接火にかける、電子レンジで温めるなどは厳禁。試験管にエタノールを 1/3～半分程入れ、熱湯を入れたビーカーに試験管を浸して温めます。
3. スライドガラスに乗せます。
4. キムワイプで十分に水を取った後、ヨウ素液を 1 滴たらしめます。
5. 十分に染まったら、葉を水で軽く洗った後、カバーガラスをかけて検鏡します。
6. 葉緑体中の同化デンプン粒が何色に染まっているか確認します。

葉緑体の色： _____ 色

*葉の縁辺部と中肋（葉の中央を縦に走る葉脈）の周りが良く染まります。

ジャガイモとサツマイモの貯蔵デンプンの観察

同化デンプンが葉緑体からほかの場所に輸送される時には、ふたたびブドウ糖に分解されてから、可溶性のショ糖の形にかえられて輸送されます。これを**転流**といいます。ショ糖は師管を通して生長の盛んな組織に運ばれ、細胞壁、脂質、タンパク質の合成に使われるほかにデンプン、脂質、タンパク質などに合成されて果実、種子、根茎などに貯蔵物質として貯えられます。貯蔵組織の細胞に運ばれて来たショ糖は、アミロプラストというデンプンを形成する能力をもつ色素体内で、再びデンプン分子の形で貯蔵されます。この状態のデンプン粒を**貯蔵デンプン**といいます。貯蔵デンプンには臍（サ）とよばれる小粒があり、これを中心として層状の構造が見られます。貯蔵デンプンには幾つかの種類がありますが、大きく単粒と複粒とに分けられます。1 個のアミロプラストの中に、1 個のデンプン粒しか形成されないものが**単粒**です。これに対して、1 個のアミロプラストの中に複数のデンプン粒が形成されたものが**複粒**です。貯蔵デンプンの形は植物によって異なり、また、貯蔵する場所も種子、果実、塊茎、貯蔵根など様々です。本実習では、貯蔵デンプンの塊である「いも」を観察します。

ジャガイモの「いも」は漢字では「薯」と書きます。馬鈴薯（ハレイショ）の薯です。これに対してサツマイモの「いも」は「薯」と書きます。甘薯（カンショ）の薯です。漢字の違いが著すように、両者の「いも」は、器官と貯蔵デンプンの種類が大きく異なっています。ジャガイモの「薯」は、地下茎が肥大した塊茎ですが、サツマイモの「薯」は根です。貯蔵デンプンは、ジャガイモは単粒でサツマイモは複粒です。単粒と複粒の違いを学ぶことが観察のポイントです。

用意するもの

ジャガイモ，サツマイモ，ピンセット（人数分），シャーレ（人数分），両刃又は片刃カミソリ（人数分），スライドグラス（人数分），カバーグラス（人数分），面相筆，ティッシュペーパー（キムワイプ）（一班当たり1箱）

観察手順

1. イモを包丁で5-7 mm 角のブロックに切り，水を入れたシャーレに入れます。
2. ブロックを，親指と人さし指でつまみ，切り口を上にし，カミソリ刃を手前に引きながら薄い切片を作ります。
3. 切り取った切片を，カミソリの刃ごとシャーレの水の中に入れてやさしく洗い落とします。
4. 切片を水で洗い，余分な澱粉を洗い流します。シャーレの水の中から，薄く切れた切片を面相筆で拾い，スライドグラスの上に乗せます。
5. 切片が乾燥しないように，水を一滴たらし，カバーグラスをかけて検鏡します。
6. デンプン粒が良く詰まっている細胞を1個選び，スケッチします。
7. スケッチにスケール（細胞の大きさ）を書き入れます。
8. ジャガイモが終わったら同様にサツマイモを観察します。

課題. 光合成の仕組みと，光合成→同化デンプン→転流→貯蔵デンプンまでの過程をノートにまとめましょう。また，光合成と呼吸とは何がどのように違うのか調べましょう。