

巻末資料—調製集

※業者、価格などは目安であり、最新のカタログで確認すること

酸・塩基試薬

試薬 (分子量・式量)	%濃度	モル濃度	作り方
濃塩酸 (劇物) HCl _{aq} =36.5	約36%	12mol/L	市販品をそのまま使用。
希塩酸 HCl _{aq}	20%	6mol/L	濃塩酸に等体積の水を加える。
	10%	3mol/L	濃塩酸1体積に水3体積を加える。
	5%	1.5mol/L	濃塩酸1体積に水7体積を加える。
濃硫酸 (劇物) H ₂ SO ₄ =98.1	約98%	18mol/L	市販品をそのまま使用。
希硫酸 H ₂ SO _{4aq}	20%	2.3mol/L	濃硫酸1体積に水7.5体積を加える。
	10%	1.0mol/L	濃硫酸1体積に水17体積を加える。
	5%	0.5mol/L	濃硫酸1体積に水35体積を加える。
氷酢酸 CH ₃ COOH = 60	約99%	17mol/L	市販品をそのまま使用
希酢酸 CH ₃ COOH aq	30%	4.9mol/L	氷酢酸1体積に水2.5体積を加える。 または、氷酢酸30gに水70gを加える。
	5%	0.8mol/L	氷酢酸1体積に水20体積を加える。 または、氷酢酸5gに水95gを加える。
食酢 CH ₃ COOH aq	約4.2%	0.7mol/L	市販品 (穀物酢や米酢) 4.2~4.5%をそのまま使用。
濃アンモニア水 (劇物) NH _{3aq}	約28%	15mol/L	市販品をそのまま使用。
希アンモニア水 NH _{3aq} = 17	10.70%	6mol/L	濃アンモニア水1体積に水1.5体積を加える。
	1%	0.55mol/L	濃アンモニア水1体積に水24体積を加える。
石灰水Ca(OH) _{2aq} = 74	約0.17%	0.22mol/L	水酸化カルシウムの飽和水溶液 20℃の水100gに対する溶解度は、0.165g
水酸化ナトリウム (劇物) NaOH aq = 40	20%	6.2mol/L	水酸化ナトリウム20gを水80gに溶かす。
	10%	2.7mol/L	水酸化ナトリウム10gを水90gに溶かす。
	5%	1.3mol/L	水酸化ナトリウム 5gを水95gに溶かす。

※ 上記の酸やアンモニア水の市販品の濃度が正確ではないので、希釈した溶液の濃度も正確にはできない。モル濃度も同様に正確な値ではなく、概算の数値である。

※希硫酸は、水を攪拌しながら少しずつ濃硫酸を加え、冷却後、試薬瓶に保存する。

※希硝酸は、光によって分解するので、褐色ビンに保存する。

※水酸化ナトリウム水溶液は、ゴム栓で保存。すりあわせのガラス栓だとくっついて開かなくなる。

酸・塩基指示薬

試薬	濃度	作り方
フェノールフタレイン	1%	フェノールフタレイン1gを95%エタノール (市販品そのもの) 90mLに溶かし、水を加えて100mLにする。
メチルオレンジ	0.1%	メチルオレンジ0.1gを温水100mLに溶かし、冷えてからろ過する。 (赤3.1~4.4黄色)
リトマス	1%	リトマス1gを粉末にし水100mLを加えて煮沸し、ろ過する。 (赤5.0~8.0青)
BTB	0.04%	プロモチモールブルー0.1gを95%エタノール20mLに溶かし、水を加えて100mLにする。(黄色6.0~緑~7.6青)

特殊試薬

試薬	作り方
ヨウ素溶液	ヨウ化カリウム 2g を 100mL の水に溶かし、これにヨウ素 1g を溶かす。褐色ビンに保存。
デンプン水溶液	デンプン 1g に水 10mL を加えてよくかき混ぜ、これを熱湯 200mL にかき混ぜながら加えて透明になるまで煮沸する。
フェーリング液	使用するとき、次の A 液と B 液とを等量混合する。 A 液：硫酸銅(Ⅱ)五水和物 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 70g を水に溶かして 1L にする。 B 液：酒石酸ナトリウムカリウム四水和物 $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 346g と水酸化ナトリウム NaOH 130g とを水に溶かして 1L にする。ゴム栓をする (劇物)。

引用 Web ページ：試薬溶液の作り方 <http://www.eonet.ne.jp/~nakacchi/Reagent.htm>

染色液

酢酸カーミン染色液

エンジムシという熱帯昆虫から抽出したコヒネアールを精製したもの。最近では人為的に合成することもできる。核を赤く染色する染色液で、細胞の観察はもちろん体細胞分裂の観察や減数分裂の観察でもよく用いられている。

カーミン (メルク 5 g 21,100 円) (NaRiKa 天然 5 g 9,300 円, 人工 25 g 3,400 円)

酢酸カーミン溶液 (ケニス 25mL 3,100 円)

45% 酢酸 50mL に 0.5~1 g のカーミンを加え、煮沸して飽和溶液をつくる。冷却後にろ過する。1% 鉄ミョウバンを数滴加えると染色状態が向上する。

酢酸オルセイン染色液

地衣類の一種から抽出した主成分オルシンを酢酸に溶かしたもの。核を赤く染色する染色液で、細胞の観察はもちろん体細胞分裂の観察や減数分裂の観察でもよく用いられている。

オルセイン (メルク 5 g 27,400 円) (NaRiKa 1 g 4,200 円)

酢酸オルセイン溶液 (ケニス 25mL 6,200 円)

氷酢酸 90mL に 2g のオルセインを加えて還流しながら湯せん加熱し、よく振り混ぜて溶かす。加熱の際、酢酸が揮発し過ぎないようにして還流する。冷却後、蒸留水を加えて全体を 200mL にし、よく混ぜろ過する。

(別法)

オルセインを 2~4g (濃い方が良染色) を 45% 酢酸 50mL に加え、煮沸して飽和溶液をつくる。冷却後にろ過する。

ギムザ染色液

血球の染色に用いる。酸性色素（エオジン）と塩基性色素（アズールⅡ，メチレンブルーなど）との混合物。アズールⅡは、好塩基性物質（核のDNA，細胞質のRNA，アズール顆粒など）を青紫色に染める。一方、エオジンは、好酸性物質（ヘモグロビン，好酸性顆粒など）を赤橙色に染める。調製されているものを買うのが、現在の主流になっている。

※ギムザ液（Wako 250mL 3,500円）

エオジン1gを水100mLに溶かした液1mLと、アズールⅡ1gを水100mLに溶かした液1mLと水10mLを混合する。これをギムザ液といい、使用時に水1mLにギムザ液1～2滴加えてすぐに染色する。

メチルグリーン・ピロニン染色液

メチルグリーンはDNAを青緑色に、ピロニンはRNAを赤桃色に染色する。メチルグリーン・ピロニン染色液はあまり保存が利かない（冷蔵庫保管で1ヶ月程度）ので、調製されたものをその都度買うよりは、粉末のそれぞれの試薬を買って、調製した方が長い目でみると安くつく。

メチルグリーン（ケニス 10g 21,400円）

ピロニンG（ケニス 10g 18,300円）ピロニンY（和光純薬工業 5g 9,500円）

メチルグリーン・ピロニン染色液（UCHIDA 100mL 4,500円）

（兵庫バージョン）

メチルグリーン	75mg
ピロニン	12.5mg
ウンナー-パッペンハイム溶媒	50mL
96%アルコール	1mL
グリセリン	10mL
0.5%フェーノール溶液	40mL

ウンナー-パッペンハイム溶媒に、メチルグリーン，ピロニンを溶解する。調製後は冷蔵保存する。劣化しやすい。

（浜島書店バージョン）

A液：0.5%ピロニン溶液

B液：0.3%メチルグリーン溶液とクロロホルムの混合液の水溶液部分

体積比A液：B液＝1：2.5で混合する。

（啓林館バージョン）

加熱した100mLの蒸留水に0.5gのメチルグリーンを加えて溶かし、しばらく放置して冷ます。冷えたら、30mLのクロロホルムを加えて容器を激しく振る。しばらく静置すると、下層にクロロホルム，上層に水が分離するので、上層の水を注意深く別の容器に移す。これに、0.08gのピロニンY（G）を加えて溶かす。

酢酸ゲンチアナバイオレット染色液

塩基性色素でクリスタルバイオレットとメチルバイオレットの混合物。細菌のグラム染色や花粉の染色に使われる色素だが、核酸と結び付くカーミンやオルセインとは異なり、**核や細胞質を短時間で染色**する。カーミンやオルセインの方がコントラストよく染色されるが、ゲンチアナバイオレットはほぼ確実に染色され、染色が原因の失敗は少ない。「ゲンチアナ」はリンドウのこと。粉末は緑色をしているが、水溶液は美しい紫色を示す。

ゲンチアナバイオレット (NaRiKa 25g 2,900円, 和光純薬 25g 3,700円, ケニス 25g 7,000円)

30%酢酸 100mL にゲンチアナバイオレット 0.75g を加え、沸騰させて溶かし、冷却後ろ過する。

ヘマトキシリン染色液

ヘマトキシリンは主に**細胞核、軟骨などを青紫色に染色**し、塩基性色素と呼ばれている。調製方法により数種類のヘマトキシリン液があり、それぞれ染色方法も若干異なるが、この中でも最も代表的なマイヤーのヘマトキシリン液について以下に示す。

マイヤーのヘマトキシリン液 (代表的なもの)

ヘマトキシリン	1.0g
ヨウ素酸ナトリウム	0.2g
カリウムミョウバン	50g
抱水クロラル	50g
結晶性クエン酸 (1水和物)	1.0g

蒸留水約 100mL にヘマトキシリンを加え、加温しながら攪拌・溶解する。完全に溶解したら、ただちに蒸留水約 300mL を加えて速やかに液温を下げ、ただちにヨウ素酸ナトリウムを加えて攪拌・溶解する。蒸留水約 300mL を加えた後、細かく粉碎したカリウムミョウバンを加えて攪拌・溶解する。カリウムミョウバンおよび抱水クロラルを一度に全量加え、速やかに攪拌・溶解する。蒸留水を加えて全量を 1000mL にメスアップする。

ズダンⅢ染色液

弱酸性色素。スダンⅢともいう。水に溶けにくいアルコールには溶けやすい。アゾ色素 (スダンⅢ, オイルレッドO, ズダン黒等) は、無極性かつ脂溶性であるため、組織に触れると組織内脂質という溶媒に溶け込み、結果として**脂肪を橙黄色～橙赤色に染色**できる。

70%エタノール	100mL (別法 70%エタノール 50mL, アセトン 50mL)
ズダンⅢ	2g

上記を混和し、50～60℃の恒温槽に一晩置き、十分に飽和した溶液とする。室温に冷却後 (粗目の濾紙で) すばやくろ過する。

ラクトフクシン溶液

酸性フクシンは酸性色素で細胞質の染色に広く用いられ、細菌、植物病害組織の染色にも用いられる。

乳酸（和光純薬 500mL 2,500 円, NaRiKa 500mL 4,100 円, ケニス 500mL 4,300 円）

酸性フクシン（和光純薬 25g 6,700 円, UCHIDA 25 g 14,500 円, ケニス 25 g 12,500 円）

乳酸 100mL に酸性フクシン 3g を混和する。（第一学習社）

ヨウ素溶液（ヨウ素ヨウ化カリウム溶液）

デンプンの検出に用いる。ヨウ素は水に溶けにくいいため、ヨウ化カリウム水溶液にヨウ素を溶かす。調製方法がまちまちであるため、特定のところからヨウ素溶液を購入したほうが安定した結果が得られる。簡易的には市販のルゴール液（ザイフェルト液ともいわれる。1000mL 中組成は、ヨウ素 12g, ヨウ化カリウム 24g, グリセリン 900mL, ハッカ水 45mL, 液状フェノール 5mL および精製水）を 10 倍に薄めると、適度にデンプンが青紫に染まる。

0.1mol/L ヨウ素溶液（NaRiKa 500mL 2,900 円, ケニス 500mL 2,100 円）

ヨウ化カリウム 1 g を水に溶かし、ヨウ素 1 g を加え 100mL とする。他にも調製法多数あり。

メチレンブルー溶液

核の染色、細菌、ペクチン細胞壁の染色、液胞の生体染色などに用いられる。水溶液は美しい青色を示す。光変性があるため、遮光ビンに入れて保存する。塩基性染色液であるメチレンブルーは、カルボキシル基に対しては著しく親和性が高まり濃色に染色される。他の酸性基とも結合する。酸化還元色素でもあるため酸化型が青色（メチレンブルー）、還元型が無色（ロイコメチレンブルー）で可逆的に変化し、脱水素酵素実験に用いられる。乳酸菌などの染色に用いる際は、生きた菌は染色されないため、必ず固定してから染色する必要がある。ギムザ染色はメチレンブルーとエオシンを混合した染色液を用いている。また、酸化還元作用によって活性酸素を発生するために、殺菌消毒作用を示し、病魚の治療でよく用いられる。そのための希薄水溶液や、粉末が添加された薬剤がホームセンターなどで入手可能である。

メチレンブルー（和光純薬 25g 2,600 円, NaRiKa 25g 3,000 円, UCHIDA 25 g 3,100 円, ケニス 25 g 6,300 円）

メチレンブルー原液（和光純薬 500mL 3,500 円）

メチレンブルー溶液（ケニス 500mL 7,200 円）

メチレンブルー0.3 g を 95%エタノール 30mL に溶かし、蒸留水 100mL を加える。（浜島書店）

※レフレルのメチレンブルー染色液

細菌類、菌類の染色に使う。メチレンブルー1.5 g を純エタノール 30mL に溶かし、0.01%水酸化カリウム溶液 100mL を加えて混和する。古くなると酸化されて、染色性がよくなる。

サフラニン液

主に植物の木化した組織の染色に用い、赤色に染まる。

サフラニン (NaRiKa 25 g 3,800 円, ケニス 25 g 9,500 円)

サフラニン 0.25 g を 95%エタノール 1 mL に溶かしたものを、精製水 200mL に混合する。他にも調製法多数ある。

固定液

カルノア液

細胞や組織の標本を作るときの一般的な固定液である。クロロホルムを用いないファーマー液もカルノア液ということがある。

無水エタノール (ケニス 500mL 2,900 円, UCHIDA, NaRiKa 500mL 3,500 円)

クロロホルム (ケニス 500mL 1,600 円, UCHIDA 500mL 2,100 円, NaRiKa 500mL 2,200 円)

氷酢酸 (ケニス 500mL 1,400 円, UCHIDA, NaRiKa 500mL 1,700 円)

カルノア液の一般的な組成

無水エタノール : クロロホルム : 氷酢酸 = 6 : 3 : 1

(別法)

無水エタノール : クロロホルム : 氷酢酸 = 2 : 1 : 1 など

ファーマー液

細胞や組織の標本を作るときの一般的な固定液である。クロロホルムを用いないため、カルノア液より安全で調製しやすい。ファーマー液をカルノア液ということがある。

無水エタノール (ケニス 500mL 2,900 円, UCHIDA, NaRiKa 500mL 3,500 円)

氷酢酸 (ケニス 500mL 1,400 円, UCHIDA, NaRiKa 500mL 1,700 円)

ファーマー液の一般的な組成

無水エタノール : 氷酢酸 = 3 : 1

引用文献：千田 和則(2013),『高等学校「生物基礎」観察,実験サポート資料』, 岩手県立総合教育センター, pp247-251