

植物榮養生理實驗書

農學博士

奧田東編

上海水產學院

1. 11. 1962

圖書館印章

植物營養生理實驗書

農學博士

奧田東編

江苏工业学院图书馆
藏书章



朝倉書店

序

學問の進歩には常に新しい研究方法が採り入れられなければならない、
農學界においては近年作物の營養生理に關する研究が盛んになつて來たが、
その進展を圖るためには、新しい研究方法の導入が必要である。

作物も植物であるから、その生理的研究には植物生理學の基礎實驗法を採り
入れる必要がある。更に最近では體内の物質代謝や酵素作用の研究が行われ始
めたが、そうすると醫學關係の研究手法まで参考にしなければならなくなる。

また近年微量元素の生理作用が漸次明かにせられ、その重要性が認められる
よになつた。従つて作物についても、また土壤や肥料についても、從來問題
にされなかつた元素の分析が必要となつて來た。それ等の元素の含量は通常極
く少量であるから、その分析は困難であつて分析化學の専門家の協力を必要と
する。

その他同位元素を利用する追跡法やペーパークロマトグラフィー等が最近諸
方面で研究に使われているが、作物の營養生理の研究にも採用されつつある。

本書は植物營養生理關係の研究に現在採用されている實驗法及び近い將來使
われるようになると思われる實驗法を、それぞれの専門家に執筆していただい
たものであつて、植物學、農藝化學及び作物學等に關係のある研究者にとつて
は、他に類のない參考書であると思う。

昭和 28 年 5 月

奥 田 東

目 次

第1篇 植物生理基礎實驗法

土 屋 格

第1章 光合成作用	1
定性的觀測法	1
定量的測定法	5
§ 1 ガス分析による光合成測定のプロシンプル	7
§ 2 靜氣(水)中における光合成の測定	9
§ 3 流氣(水)中における光合成の測定	13
§ 4 流氣法における CO ₂ の測定	16
§ 5 物理的測定法	23
§ 6 附隨的装置と技法	26
§ 7 測定装置の實例	39
§ 8 實驗材料の取扱	53
§ 9 自然狀況における光合成の測定	54
第2章 呼 吸	61
§ 1 植物の呼吸の測定	61
§ 2 靜氣中の呼吸	61
§ 3 流氣法による測定	64
§ 4 水中の呼吸	69
§ 5 無酸素呼吸の測定	73
第3章 植物組織培養	75
§ 1 組織及び器官培養	75
文 獻	93

第2篇 高等植物の培養法

奥田 東

第1章 水耕法及び砂耕法	101
§ 1 培養方法	101
§ 2 培養液	103
§ 3 水耕培養液の簡易分析法	114
第2章 土耕法	117
§ 1 植木鉢試験	117
§ 2 框試験及び土管試験	118
§ 3 圃場試験	119
第3章 特殊培養法	120
§ 1 Lundegårdh 法	120
§ 2 Hoagland 法	121
§ 3 Steward 法	122
文 献	125

第3篇 植物有機成分分析法

林 武

まえがき	127
第1章 一般的事項	127
第2章 炭水化物の定量	129
§ 1 試料の調整	129
§ 2 試料の貯蔵	129
§ 3 酒精抽出	130
§ 4 炭水化物の分別定量	130
第3章 窒素化合物の定量	136
§ 1 試料の調整	136

§ 2	全窒素、蛋白態及び可溶態窒素の定量法	137
§ 3	可溶態窒素の分別定量	141
§ 4	特殊な窒素成分を含有する試料の定量法	153
第4章	粗エーテル抽出物定量	154
第5章	磷酸化合物の定量	155
§ 1	Schmalfuss 法	155
§ 2	LePage and Umbreit 法	157
第6章	植物色素の定量	160
§ 1	全クロロフィルの定量	160
§ 2	カロチンの定量	161
第7章	特殊成分の定量	166
§ 1	ニコチンの定量	166
§ 2	カフェイン及びタンニンの定量	167
§ 3	ピレトリンの定量	170
§ 4	薄荷葉の油分及び脳分定量	172
文	献	174

第4篇 植物無機成分分析法

永原太郎・久保彰治

第1章	總 説	177
§ 1	植物無機成分の定量に関する一般的注意	177
§ 2	試料の調製	181
§ 3	灰 分	182
§ 4	珪 素	183
第2章	陽イオン元素の定量	185
§ 1	カリウム	185
§ 2	ナトリウム	189

§ 3	カルシウム	191
§ 4	マグネシウム	193
§ 5	鐵	197
§ 6	マンガン	201
§ 7	亜鉛	204
§ 8	銅	208
§ 9	アルミニウム	211
§10	コバルト	214
§11	ニッケル	217
§12	モリブデン	219
第3章	陰イオン元素の定量	221
§ 1	鹽素	221
§ 2	硫黄	222
§ 3	磷	223
§ 4	硼素	226
§ 5	沃素	230
文	献	236

第5篇 生化學實驗法

滿田久輝

精	官	241
第1章	酵素實驗法	243
總	說	243
§ 1	カタラーゼ	247
§ 2	過酸化酵素	251
§ 3	炭酸脫水酵素	253
§ 4	酸化酵素	256

§ 5 黄色酵素	258
§ 6 脱水素酵素	259
§ 7 カルボキシラーゼ	260
§ 8 Transaminase	260
§ 9 エステラーゼ	261
§10 蛋白分解酵素	265
§11 Amidase	267
§12 炭水化物分解酵素	270
第2章 Vitamin 実験法	274
§ 1 水溶性ビタミン実験法	274
§ 2 脂溶性ビタミン実験法	293
参考書・文献	294

第6篇 同位元素を利用する Tracer method 葛西善三郎

第1章 緒言	309
§ 1 生物研究學に對する Tracer method の意義と必要條件	309
第2章 放射性同位元素による實驗	311
§ 1 總説	311
§ 2 實驗上の一般的注意と安全取扱法	312
§ 3 放射能の測定装置並びに測定方法	314
§ 4 植物實驗法	319
§ 5 實驗結果の整理	324
第3章 非放射性同位元素による實驗法	325
参考書・文献	325

第7篇 Paper Chromatography

奥田東・堀士郎

第1章 概 説	329
§1 緒 論	329
§2 一般實驗操作法	380
§3 定量方法	387
第2章 アミノ酸の検出	338
第3章 炭水化物の検出	341
第4章 その他の物質の検出	343
文 献	343
索 引	349

第1篇 植物生理基礎實驗法

第1章 光合成作用

自養性植物 (Autotrophic plants) の光合成の觀測は定性的と定量的とを問わずこの機能に伴い又は結果として現われる次の3事項を目標として行われる。

1. 酸素の放出 2. CO_2 の吸収 3. 含水炭素の生成。なお光の吸収も目標となり得べきものであるが技術上の困難から廣く用いられていない。

かような目標に就いて光合成と呼吸とは、正に正反對のはたらきであるから、觀測は常に光合成、呼吸の差引勘定の結果として把握せられる。即ち見掛けの光合成 (Apparent assimilation) が觀測されるのである。例えば光合成によつて放出せられる酸素の一部は直に呼吸によつて消費せられるから、實際體外に排出せられる酸素は光合成の結果生成せられる酸素の量よりは小さい筈である。 CO_2 の吸収、含水炭素の増量に就いても似たことが考えられる。呼吸のみを停止せしめ、光合成には無關係な化學物質を使用することによつて眞の同化量を觀測しようとする試みは少くないが理想的なものは發見されていない。かようなことに關聯する事項に就いては更に後で記述する。

定性的觀測法

單に與えられたる植物材料が現在同化能力を持つてゐるか否かということを知別すれば足りる場合が少くない。例えば凍結した綠葉が常態に復歸した時直に同化を開始し得るかというようなことが知りたい場合がこれである。

1. 色素による方法。これは主として水中における光合成の觀測に限られる。故に沈水植物材料には最も適切な方法であるけれど、陸上植物材料にも適用することが出来る。Indigo 又は Indigo carmine は還元されると無色の Leucobase となり、これは微量の酸素によつて酸化復色する。1) Na_2SO_3 の濃厚溶液に粉状亜鉛 (Zinc dust) を加え冷却しつつよく振盪した後 $\text{Ba}(\text{OH})_2$ で中和後靜置すれば淡黄色の上澄液が得られる。密閉し得る硝子瓶に極めて少量の NaHCO_3 (0.01%) を加えた水を入れ、これに試験植物材料を収めた後、Indigo 又は Indigo

carmine の 0.1% 溶液を滴下して明らかに藍色を呈せしめる、なるべく暗所に暫時靜置して密栓された瓶内の水中にとけていた酸素が呼吸により消耗しつくされた時を見計らい、 Na_2SO_3 液を滴下して Indigo, Indigo carmine の色を消失せしめた後强光にあてると、綠色植物材料の附近から、酸化された Indigo, Indigo carmine の藍色が現出して来る。

Matsubara⁶⁾ (1931) は酸素を除去した 5l の蒸留水に 0.5g の KHCO_3 を加えてとかし、更に粉末状の Indigo carmine 0.125g と粉末状 0.068g の Na_2SO_3 (Kahlbaum pro analysi) とを加える。出來た水は空氣に觸れると表面が藍色になる。Spirogyra, Fontinalis のような水生植物を一定量の上記の液と共に硝子器に密閉して光にあて、Indigo carmine の復色を比色的に測定して 0.001% の O_2 の變化を定量することが出來た。即ち定量的測定にも延長することが出來るのである。

Phenolphthalein は pH=8.0 から紅色を呈しはじめ pH=8.5 あたりで濃紅色となる。一方 NaHCO_3 は水中で解離し Na^+ , HCO_3^- となり Na^+ は更に NaOH となるために水は pH=8.0 附近となる。故に水に少量の NaHCO_3 をとかし材料を授じて光にあてれば光合成により HCO_3^- 又は CO_2 が吸収せられ過剰の Na は水の pH を 9.0 以上に高める。2), 3), 4), 5)。

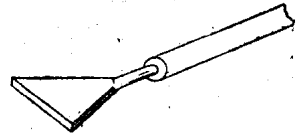
白磁製の皿に NaHCO_3 を加えた水を盛り、Phenolphthalein の數滴を混じた後試験材料を入れて光線にさらせば明瞭に材料附近から水が紅變して來るのが觀測され、光合成の進行を確認することが出來るであろう。この色素法も密閉された硝子器中で水を攪拌する機構を加えて一定の紅色になるまでの時間を標準の紅色に比べて測定すれば、觀測を粗な定量的にまで持つて來ることが出來る。

Phenolphthalein 法は前法のように Na_2SO_3 や Zn のような有毒物質を導入する必要がないからそれよりも優れている。

Haemoglobin⁷⁾ は酸化されて Oxyhaemoglobin となり、その光の吸收帯の位置が變化する。Haemoglobin は直接蛙又は人間の靜脈血を用いればよい。植物材料を氣密に血液 (2 倍量に水でうすめる) と共に載物硝子上に蓋硝子で封じ、顯微分光器 (Microspectral ocular) でその吸收スペクトルを觀察する。先ず暗室で暗くして置き、光をとおしはじめた直後から吸收帯の變化を觀測するのである。Microspectral ocular には對照用の物質を入れる小さい硝子瓶が附屬しているから、これに Haemoglobin 溶液又は靜脈血をうすめたものを入れて觀測

すると視野に被験物のスペクトラムと対照物のスペクトラムとが side-by-side に現われ、Haemolobin→Oxyghasmoglobin に伴うスペクトラムの變化が瞭然として観測される。

2. 趨氣性バクテリアによる方法⁸⁾。非常に小さい組織の切片などに用いられる唯一の方法である。



第1圖 Venetian terpentine 用の銅板製の饅(土屋)

自走性の硫黄バクテリア、枯草菌等の酸素に対する強い趨氣性を利用するのであるが、枯草菌は 100cc の水道水に1個の青エンドウを投じ 20°C 位に保てば 1—2 日後、殆ど純粹に得られる。載物硝子、蓋ガラスを清洗して特に脂肪を除き、対象植物材料を菌を含む水と共に気密に蓋硝子下に封ずる。蓋ガラスの縁から餘分にはみ出ている水を濾紙で除き第1圖の如き饅を熱してこれに固形 Venetian terpentine の少量を熔着させてから、蓋硝子の側面にあてるようにして封ずる。少々硝子がぬれていても樹脂はよくなじむ。固形 Venetian terpentine は市販の液状のものを蒸発皿に入れ、弱火で数時間熱し揮發性の油を除去して作ることが出来る。又性能は劣るけれど Paraffin と松脂とを混合して代用することも出来る。

バクテリアはスポイトを以て培養液の中層から取出し、スポイトの先の外側を濾紙で拭つてから載物硝子上に滴下するがよい。要するに既に活動性を失つた個體や孢子等を導入すると結果は鮮かに現われない。

この方法では1個の細胞の光合成能でも観測することが出来る。ただ酸類や多量の糖類を含む組織ではこれらの化學物質による趨化性によつて邪魔されるから、光のある所でだけ結果が現われるということを確認しなければならない。

3. 發光バクテリアの發光による方法⁹⁾。發光バクテリアは無酸素の状況で發光を停止し非常に微量の酸素によつて發光する。この發光が酸素の微量で行われる機能は頗る鋭敏で酸素検出ということに就いては物理化學的方法よりも鋭い。

發光バクテリアは海産の魚類等から容易に純粹培養される。ツツイカ、カレイ等は好材料である。

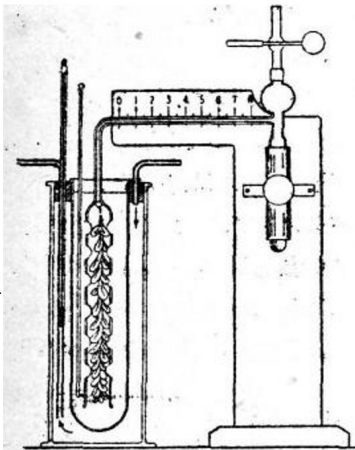
密栓し得る小さな硝子瓶又は管瓶に被験材料を水と共に入れ、これに液體發光バクテリア培養を瓶の内部が強く發光する程度に入れる。密栓して空氣の氣泡を残さぬように水及び培養の量を加減しなければならない。暗室で觀察すると、材料及び發光バクテリア自身の呼吸で既溶の酸素が消耗されるに従い、光が弱くなり遂に肉眼では全く暗黒となる。この時、目をとじて瓶を數秒間 30 Watt 位の

電燈で1米位の距離から照射（一本のマッチでこれが燃えつくすまで照らしてもよい）消燈後目を開いて見ると瓶内が光合成によつて放出された微量の酸素のため再び強く光つているのが見える。この方法は組織の粉末や搾汁に就いても行えるから或る場合には頗る便利である。

4. 氣泡計測法。古典的な方法で Dutrochet¹⁶⁾ の創始せしもの。酸素は比較的に空氣と平衡を保つた水にはとける速度が遅い。故に光合成によつて放出せられる酸素が組織のある1個所からまとまつて排出せられると氣泡になる。この方法は極めて常識的なもので改めて記述することは少い。唯だ氣泡は酸素の他 CO_2 、 N_2 をも含みその割合は同化作用の強弱によつて變化するから定量的にもつて來るには相當の考慮を必要とする。又氣泡の出る速さは氣泡と排出點の接着狀況で變化する。この妨害を除くためには一應氣泡を集めて硝子毛管の先から出すようにした方がよい。水生植物ばかりでなく、綠葉等にも適用が出来る。

使用する水にはあらかじめ CO_2 を通ずるか、飲用炭酸水又は NaHCO_3 の少量を加えて CO_2 の濃度を高めて置いた方が光合成の檢出は容易となる。種々の改良が試みられている¹²⁻¹⁷⁾。

第2圖は氣泡計算法をやや定量的に行い得る Audus¹⁸⁾ (1940) の裝置で太い



第2圖 Audus の裝置 (1940)

試驗管中に、一端に毛管を附した硝子管を逆に入れ、この中に實驗材料を倒立させる。この硝子管はその壁に多數の穴をあけてある。毛管は直角に曲げその端は T 字管に接続される。この T 字管の一腕は球部を経てゴム管につながれ他端は肉厚ゴム管に接続される。外側の試験管は更に太い硝子筒に充された水の中に沈められる。この試験管内には 2% の NaHCO_3 の溶液（あらかじめ空氣で飽和しておく）を充し攪拌棒によつて攪拌することが出来る。硝子筒の中の水は常に矢印の如く更新され温度は寒暖計によつてよまれる。肉厚ゴム管を押すネチによつて既

に毛管部に溜つた O_2 を追出し、次に O_2 が上昇してスケールの零を切つてから單位時間毎に右方へ移つて行く距離をスケールでよむのである。

5. 含水炭素の出現又は増加による方法。既往光合成を行いつつあつた材料に

については困難であるけれど、暗所に置いて 12 h—48 h 光合成を停止せしめて、置いた材料については、光線を照射後切片を作り、IHK の試薬を加えて澱粉反応を見ればその時の同化能の有無を定めることが出来る。Sachs¹⁹⁾ の沃度試法である。厚い葉で見にくいものは抱水クロラルの水溶液を切片に加えて透明にすれば見易くなる (Schimper¹⁹⁾ 1885)。但し光合成終末生成物として IHK に呈色反応を示さない澱粉及び他物質を作るものに対しては適用することが出来ない。Meyer²⁰⁾ (1885) は緑葉により澱粉を生成するものと否とによつて植物を別けている。

緑葉等では、アセトン又はアルコールで色素を除去して漂白し、これを IHK の試薬に浸して葉全體としての色調を比較すれば、同一植物に就き、一定の強さの光、温度で澱粉を消耗しつくしたものの単位時間内における光合成量の大きさを比較することが出来る。

定量的測定法

定性的の方法はいずれも多少の改良によつて粗雑な定量法へ轉換することが出来る。しかし數量的に観測するには別の方法をとらねばならない。

1. 乾量の増加による測定。緑葉に適用される古典的方法で Sachs²¹⁾ (1884) によつて創始せられている。ある時間内における葉の単位面積に對する乾量の増加を以てその時間内に光合成によつて生成せられた物質の量と見なし、これによつてその時間中の同化作用の強度を代表させるというのがそのプリンシプルである。Sachs の創始したのは所謂半葉法 (Half-leaf method) で緑葉の組織的、生理的の個體差を除去するために観測の始めに、母體についたまま緑葉の半分を中筋を残して除去し直に面積を測り乾燥秤量してその乾燥量を単位面積に對して計出する。残された半葉はそのまま母體につけて光合成を行わしめ、一定時間後、同様な數値を計測し、當初と終末との數値の差を以て同時間内における同化量/單位面積としたのである。なお呼吸及び移動による乾量の減少は夜間の葉について計測し、これを得た數値に加えて補正した。

この古典的方法は、その後、多くの學者によつて批判²²⁻²³⁾、改良され、操作の簡單さから今日なおしばしば用いられている。

この方法によると、直接ガス代謝の測定により得た値よりも高い値が計出せられるのが普通である。

觀測に供せられる葉の面積の測定はなるべく手早く正確に行わねばならない。このため及び葉の個體差を小さくするため今日では半葉法を用いず Ganong²⁾の打抜法 (Punching method) が用いられる。これには特別の打拔器もあるが直徑3 cm 位のホルク栓の穴あけ器で、多くの葉から1枚ずつ圓板を打ちぬきその乾量を觀測すればよい。この方法を用いれば強いて圓板の面積を計測する必要はなく、ただその枚数を計算の基礎として同化量を比較することが出来る。又、見本を打ちぬく葉は常に新しいものを使い得られるから、受傷による同化能の變化を顧慮する必要もないし、多數の葉を打ち抜いて個體差を小さくすることも出来る。

見本は直に秤量瓶に入れ熱乾燥を行うのであるがこの操作を適當に行わねば有效な數字が現われない。要するになるべく早く葉を殺した後、早くその純水分だけを除去することが必要である。しかもその操作は定法に従わねば、異なつた實驗の比較が出来ないのはいうまでもなく、實驗値の個人差が大きくなる。定法は最初98°Cで秤量瓶を密閉したまま約30分間乾燥器内で熱した後、栓を開放し同温度で恒重になるまで乾燥する。大抵の場合24時間を要する。

揮發性の物質を含み、これが同化生成物に直接關聯をもつ時はその喪失を問題としなければならないが普通その必要はない。

當初にも述べて置いたようにかような實驗でも得られる結果はやはり見掛の光合成量であつて眞の光合成量ではない。眞の光合成は呼吸及び運搬による物質喪失を附加しなければならない。Sachsのように夜間の乾量減少を觀測してこれを補償値として取扱えば幾分眞の光合成に近くなるが完全ではない。かような補正が完全に行われたにしたところで、この方法によつて得られる結果はあくまで葉の物質代謝であつて、これを基礎に個體全體としての物質代謝にまで論及するのはよほど控え目ではならない。例えばかような觀測で大きな光合成を確認したからといつて個體全體として必しも+の生活をしているとはいへないのである。

2. 同化生成物の直接定量による方法。乾量の増加を目標とする代りに、同化生成物を澱粉及び葡萄糖と假定し、これ等の觀測前後の増量を測定して實驗時間内の同化量を知る方法がその1である。澱粉は實驗材料を乾燥定量後、糖化酵素〔普通 Taka Diastase を用いる〕で糖化し、共存の還元糖と共に Fehling の方法で容量分析して決定する。又、全炭素量を元素分析して決定してもよい。

しかしいずれも操作の面倒なのに比較して得られる数値の正確さは半葉法よりさまで優れていない。

3. ガス分析による方法。定時間内に放出した酸素又は吸収した CO_2 の量を測定して同化量を観測する方法で精粗様々の方法が案出されているが、正確なる資料を得るには結局この方法による他はない。殊に同一材料につき観測を連続的に行つて光合成の時間的経過を見るにはこの方法より他に適當な方法はあまりない。

空氣中における光合成は、吸収せられる CO_2 を目標とするのが一般である。これは分析用吸収劑による酸素の吸収は CO_2 の場合に比べて困難なためである。水中においては酸素の定量が CO_2 のそれよりも却つて容易であるからこれが目標とせられることが多い。物理的方法をもつてガス分析する場合にも CO_2 を目標とする。これも O_2 と N_2 とは物理定数が似ているが、 CO_2 はこれ等よりかけはなれているからである。

§1 ガス分析による光合成測定のプロシプル

1. 一定容積、組成の空氣又は水の中に光を照射しつつ一定時間材料を置き、 CO_2 又は O_2 の濃度の變化を観測して光合成を測定する方法。この方法は最も古くから行われたもので Pfeffer²⁵⁾ (1877) 以後多くの研究者が改良している。Warburg²⁶⁾ (1922) 等が Barcroft²⁷⁾ (1908) の指差檢壓計 (Differential manometer) を利用した方法もこのプロシプルに従うもので今日なお多くの學者がそのまま使つている (この方法に就いては既に成書もある程に一般的に使用されているからこの書では觸れない)。Osterhout²⁸⁾ (1917) が創めた水中へ放出された O_2 を Winkler の方法で分析する方法は Harder²⁹⁾ (1921) によつて改良され多くの研究がなされている。

このプロシプルの缺點とするところは、光合成の進行に伴い容器内の CO_2 の濃度が減少して來ることである (尤も光合成の小さい材料では緩衝液を用いて CO_2 の濃度を恒常に保つことが出来る)。従つて測定は CO_2 が限定因子の圏外にある時、短少時間内に限られる。また陸上植物では密閉器中の空氣の温度の control が出来ない。従つて今日では水生植物の他には多く適用されていない。

2. 一定組成の空氣又は水を、材料を收めた容器に通じ、出て來る空氣の組成の變化を測定して光合成を観測する方法。このプロシプルが今日光合成を測定するの最も理想的と考えられるものである。このプロシプルによれば、材料

を充分恒常なる組成と状況をもつと見做し得る水又は空気の中で光合成を行わせ、且つ長時間に亙る測定が可能である許りでなく時間的の測定をなしてその経過を追求することも出来る。この方法は1840年に Boussingnault³⁰⁾ が既に採用している。20枚のブドウの葉を15 l の容積の硝子球に入れ1時間15 l の早さで空気を通じ流出して来る空気を CO₂ 吸収管に導き残存する CO₂ を定量する。一方同じ早さで空気を同時に別の吸収管に通じ CO₂ を定量しこの2の値の差から光合成によつて消費せられた CO₂ を測定したのであつて、そのプリンシプルにおいて今日野外における測定と少しも異なるところがない。後 Kreusler³¹⁾ (1885) が改良し爾後 Giltay³²⁾ (1895) や Blackman³³⁾ (1895), Matthaei³⁴⁾ (1904), Brown and Escombe²²⁾ (1905) 等の英國學派をはじめ Wilstätter & Stoll³⁶⁾ (1918), Spoehr & McGee³⁷⁾ (1923) 等が夫々實施に工夫をこらし、更に McLean³⁸⁾ (1920), Kostytschew³⁹⁾ (1926), Lundegårdh⁴⁰⁾ (1927), Harder⁴¹⁾ (1931) が野外における観測にまで延長した。今日、綠葉の光合成はこの方法によつて観測するのが定法となつている。従つてその實際の方法は千差萬別で各々一長一短をもつていて詳述すれば限りない程度になつている。

ガス分析による光合成の測定のプリンシプルの種々をまとめて圖示すると第3圖の如くなる。

- I. 材料を同化箱 (TA) に密閉し、一定時間光を照射した後、その中の空氣の組成の變化を測定する。
- II. 同化箱に空氣循環ポンプ P をつけて攪拌し、上の如く空氣組成の變化を測定する。
- III. 一定組成の空氣をガス溜 T₁ に貯え、同化箱 A から分析器 L を通じ残存する CO₂ を吸収定量後その容積を T₂ で測定し A にて吸収せられた CO₂ の量を計出する。
- IV. 上と同じであるが同化箱内空氣攪拌ポンプ P を附す。
- V. 組成既知の空氣を T₁ より A に送り、一先ずタンク T₂ にため、これより見本を取り出し、L で CO₂ の残量を測定する。
- VI. 空氣の容積を測らず流速計 F で流速を読みそれより空氣量を計出する。P は吸引ポンプ。
- VII. 大氣をそのまま使い一部を同化箱へ一部を Control としてその同量中の CO₂ を L で分析し差から A で吸収された CO₂ を計出する。A 以後の處置は III