

光合成色素(葉の色素)の分離

目的: 緑色植物は緑色の物質である葉緑素を持ち、光合成を行う。一方緑色をしていない赤シソや海藻のフノリ、サラダ海藻のトサカノリ、茶色い昆布等には光合成を行う葉緑素は含まれていないのであろうか。この疑問を実験を通して調べる。

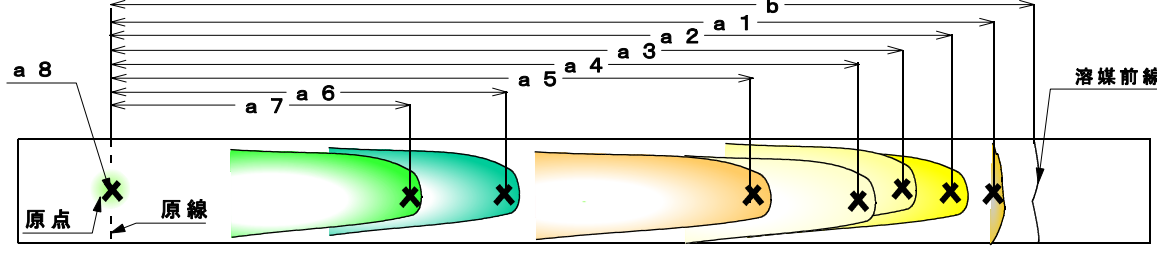
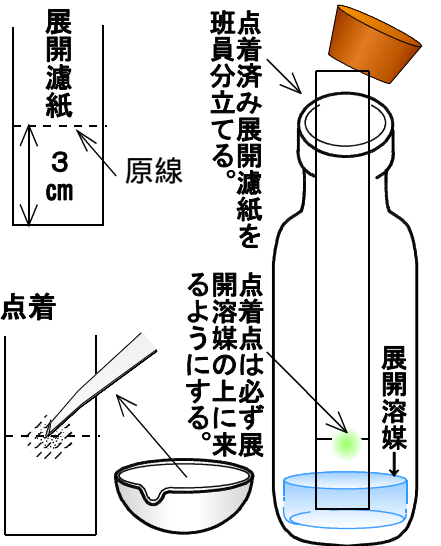
探求仮説: 『赤シソやトサカノリは緑色の色素をもたないため、赤い色素で炭酸同化(光合成)する』を検証する。
プリンシプル: 一般に葉緑体内には**主色素**と呼ばれる・実際に光化学反応を行う**クロロフィルa**と、**補助色素**と呼ばれ主色素が吸収できない波長域の光エネルギーを捉え主色素のエネルギーを受け渡す**カロテン・キサントフィル・クロロフィルb**がある。最近、なぜ存在するか不明であった**アントシアニン**までが、有害な紫外線を光合成に利用可能な赤色光に変換する働きがあることがわかってきている。本実験では各色素の溶媒親和性の差でこれを分離する(今回紙を用いるため、ペーパークロマトグラフという)。親和性とは、身近な例では水性ペンと油性ペンの違いで、油性ペンの汚れは水では落ちにくい、ベンジンなどの油を用いると簡単に落ちる性質がある。本実験では展開液のトルエンという油脂に親和性のある・仲良しな・良く溶ける色素がペーパーの上まで移動し、親和性のない水に溶けやすい色素が下に残る。その間トサカノリの光合成色素探求を行うが、これはクロロフィルという光合成の酵素タンパク質が熱に弱く、熱分解することを利用している。最後に吸収スペクトル(葉緑体がどのような波長・色の光を好むか。)の実験を行う。

材料: 赤シソ・赤キャベツの乾葉、マツモ(商品名アカノリ)・トサカノリ、色素抽出液(メタノール:アセトン=3:1の混合液)、展開液(トルエン)、沸騰したお湯。展開濾紙、乳鉢、乳棒、爪楊枝、標本瓶、モリサシ(各自)、スライドガラス、輪ゴム、分光器、生物育成ランプ

方法:

実験1: ペーパークロマトグラフ法による光合成色素分離実験

色素抽出: 乾葉を乳鉢に入れ、抽出液に20分以上浸した後押しつぶし、色素を濃く抽出する。この時すりつぶしたり、生の葉の場合「ミセル」を形成し、光合成色素を封じ込めるため失敗する。
展開濾紙に原線を引き、原点に爪楊枝で色素を点着する。約30回つけては乾かし、小さく濃く点着する。この時も葉片やミセルで濁った黄緑色の不透明な液を点着すると失敗する。
標本瓶にセットする。原点が溶媒の上に来るよう、班員の濾紙やガラス壁と触れないよう注意する。この後約30分の待ち時間に実験2と3を行う。
濾紙を浸み上がる展開液の先端(溶媒前線)が栓の1cm下程に達したら濾紙を取り出し、すぐ溶媒前線に鉛筆で印を付ける。展開溶媒の蒸発で前線が見えなくなるので極力急ぎ印を付ける。原線から溶媒前線迄の距離をbし記録する。また各色素を鉛筆で縁取り、その最も濃い所を中心とし、その色合いと原線からの距離(a₁、a₂、a₃、...)を記録する。最大9種に分類できる可能性がある。

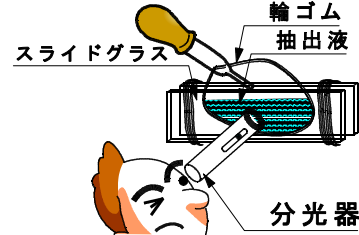


実験2 紅藻素(フィコエリトリン)の熱アルカリ分解による紅藻内のクロロフィルaの確認

マツモを2つに分け、一方を80度の5%重曹に入れ、色の変化を調べる。また、実験1終了後に得られるクロロフィルの色調(色合い)と比較し、処理後に残った色素がクロロフィルaかbか調べる。

実験3 吸収スペクトルの観察

右図のように2枚に合わせたスライドガラスの中に葉緑素抽出液の余りを入れ色素プレートとし、分光器でスペクトルを観察する。
色素プレートを用いた場合、用いない場合、及び植物育成灯それぞれのスペクトルを比較する。



本実験も実験1の も、色調の違いが見分けられるかが鍵。赤と朱、では橙、黄、黄緑、萌葱、緑、浅葱、青緑色・・・見分けられますか？

結果: 実験1 色素名は裏面の色調とRf値から考えてください。

前線	色素a ₁	色素a ₂	色素a ₃	色素a ₄	色素a ₅	色素a ₆	色素a ₇	色素a ₈	色素a ₉
b= cm	cm	cm	cm	cm	cm	cm	cm	cm	cm
Rf値	$\frac{a_1}{b}$	$\frac{a_2}{b}$	$\frac{a_3}{b}$	$\frac{a_4}{b}$	$\frac{a_5}{b}$	$\frac{a_6}{b}$	$\frac{a_7}{b}$	$\frac{a_8}{b}$	$\frac{a_9}{b}$
色調									
色素名									

実験2 結果 熱湯処理後の色の変化

熱湯処理後に残った色素名

実験3 葉緑素抽出液が吸収した光はどの色が。該当する色3つに○をつけなさい

【紫色、青色、青緑色、浅葱色、緑色、黄緑色、萌葱色、黄色、橙色、赤色】

考察

- 実験1と3の結果から光合成色素の色と葉緑素抽出液が吸収する光の色の関係は次の何れか。
光合成色素の色と葉緑素抽出液が吸収する光の色は、同じである。
光合成色素の色と葉緑素抽出液が吸収する光の色は、一部同じで一部異なる。
光合成色素の色と葉緑素抽出液が吸収する光の色は、相補関係にある。(用語を覚えよう)
- 実験2から葉中の目立つ色素が破壊されると隠れていた色素が見えてくることがわかる。では、ポプラやイチヨウが秋になると黄色くなるのは、葉の中でどのような変化が起きていると考えられるか。
- 一般に黄色系の色素は、緑色系の色素より高い位置まで展開する(登ってくる)この現象を「展開溶媒に対する親和性」という用語または、「より展開溶媒に溶けやすい性質」という用語を用い説明しなさい。
- 赤ジソを用いた場合紫色の色素が原点付近に残る理由を「展開溶媒に対する親和性」という用語または、「より展開溶媒に溶けやすい性質」という用語を用い説明しなさい。

2年 組 番氏名

ここに実験した展開用紙を張り付けてください。

ここに実験した展開用紙を張り付けてください。

参考:キシレンを展開溶媒としたときの色調とR f値

	カロテン	キサントフィル		クロロフィル		フラボノイド		ポリフェノール
前線	βカロテン	ルテイン	ビオラキサンチン	クロロフィルa	クロロフィルb	変性したクロロフィルa	変性したクロロフィルb	アントシアン
R f値	0.97	0.84	0.70	0.38	0.23	0.15	0.12	0.0
色調	橙黄色～黄褐色	鮮黄色	薄黄色 萌葱色	青緑色	黄緑色	くすんだ青緑色	くすんだ黄緑色	赤紫色

クロロフィルは熱処理や加齢、ホルモンなどにより水酸基(- OH)が付き水に溶けやすくなり、これをフラボノイドといいます。さらに古くなると薄黄褐色の物質となりほとんど見えなくなります。前者のフラボノイドを利用しているのはお茶で、お茶の生葉を蒸した後、手揉みすることでフラボノイドが増えます。このため、普通の葉っぱにお湯をかけても緑色の液体は出てこないのですが、精製したお茶だと例の濃い緑色の液体が出てきます。後者は・・・考察に利用してください・・・。

ちなみにβカロテンやアントシアンは目などに、ルテインは血管障害に良いとされる栄養素です。また、フラボノイドは消臭等様々な効能が騒がれています。みんなの健康のため調べてみては・・・！！？

ここに実験した展開用紙を張り付けてください。