

光合成色素の分離と吸収スペクトルの測定

～クロロフィルの劣化と吸収スペクトル～

理数科2年 崎山 友香里 中里 一幾
村上 弓弦 松田 真紀

1 主題設定の理由

昨年、理数科サマーセミナーでパセリの光合成色素を分離する実験を行い、そのときに光合成色素について興味を抱いた。しかし、正課の授業では光合成色素について「光を吸収し、光合成を行うもの」としか説明されなかった。そこで今回の課題研究では、植物と光合成色素の関係をより深く追究していこうと考えた。

2 目的

光合成色素について、正課の授業ではできない4つの実験を行う事で、仮説に対する実証をする。

3 実験1 TLCシートによる様々な植物の光合成色素の分離

植物によって葉の色は異なっている。葉の中には有色の色素が存在することから、この色素の種類や含有量の差によって、葉の色が決定しているのではないかという仮説を立てた。そこで、校内の植物(コケ、シダ、マツ、キンモクセイ、メタセコイヤ、フジ、プラタナス、ソテツ)を採取し、分離した光合成色素の種類や含有量を比較した。

(1)実験方法

光合成色素を分離するために、シリカゲルカラムクロマトグラフィーによる分離法と、TLCシートによる分離法を試みた。前者の方法で試したところ、分離の際に発熱反応による沸騰が起こり、シリカゲルが崩れてしまってもうまいかなかった。この方法で分離するには、冷却しながら行うなどの工夫が必要だと考えられる。後者の方法で分離を行ったところ、特に問題なく色素が分離できたため、今回の課題研究ではTLCシートを使って色素分離を行った。

手順①:葉を細かくちぎり、乳鉢の中ですりつぶす。

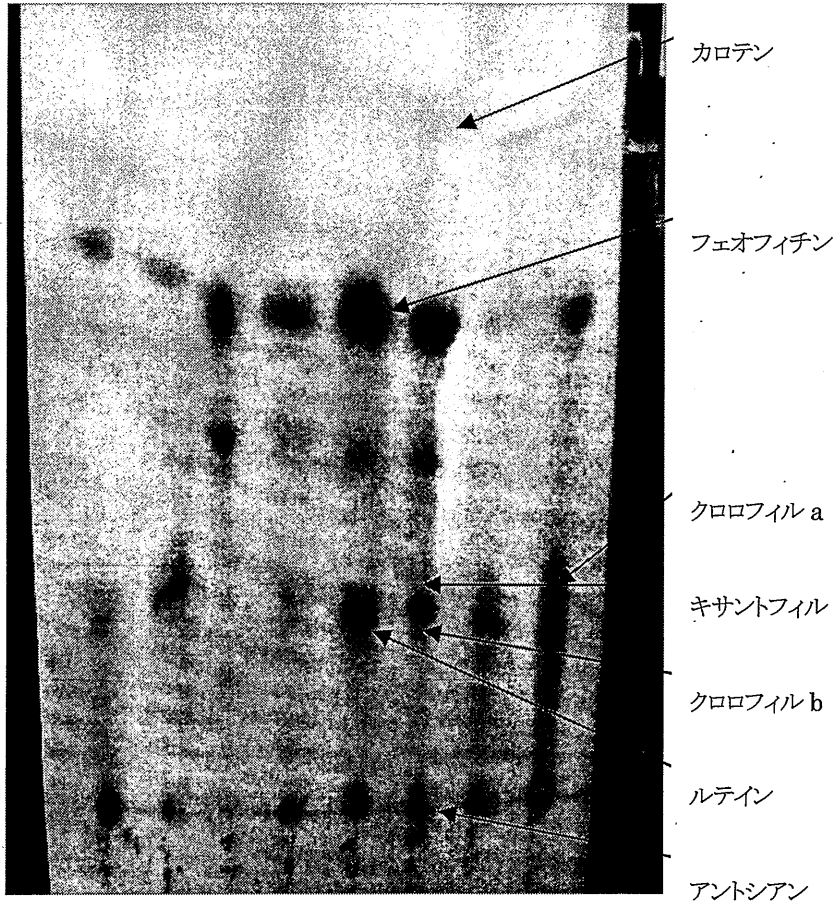
(コケは土が多く付いていたため、水洗いをしてから行った。)

手順②:乳鉢にアセトン8mlを入れ、色素を抽出する。

手順③:濾した抽出液を入れたビーカーを湯煎し、アセトンを飛ばして色素を濃縮する。

手順④:TLCシートに色素を数回スポットし、乾燥させた後、展開溶液(ヘキサン:アセトン=6.8:3.2)につけ、展開させる。

(2)結果



○各色素の説明

- ・カロテン…疎水性。クロロフィルの光の吸収を助ける働きをする。
- ・フェオフィチン…疎水性。灰色。実験3で詳しく扱う。
- ・クロロフィル a…疎水性。青緑色。光合成反応には欠かせない色素。中心にMgをもつ。
- ・キサントフィル…疎水性。クロロフィルの光の吸収を助ける働きをする。
- ・クロロフィル b…疎水性。黄緑色。クロロフィルの光の吸収を助ける働きをする。
- ・ルテイン…疎水性。黄色。クロロフィルの光の吸収を助ける働きをする。
- ・アントシアン…親水性。赤色。秋の紅葉時に葉に多く見られる。紅葉が赤いのは、この色素を多く含むためである。

(3)考察

- ・写真の色素が横一列に並ばなかったのは、用いたTLCシートの幅が広がったため、中央と両端で展開溶液の上昇速度が異なるからであって失敗というわけではない。
- ・今回調べた8種類の植物はすべて同じ色素を持っていた。
植物によって吸着した量に違いが見られることから、含有量は一定でなく植物によって差があった。

4 実験2 採取した色素の吸光度の測定

光をどれくらい吸収するかを示した吸光度を調べることによって、特定の色素がどの波長の光を吸収するかを知ることが出来る。また、吸収しない波長の光を発する。

(1)実験方法

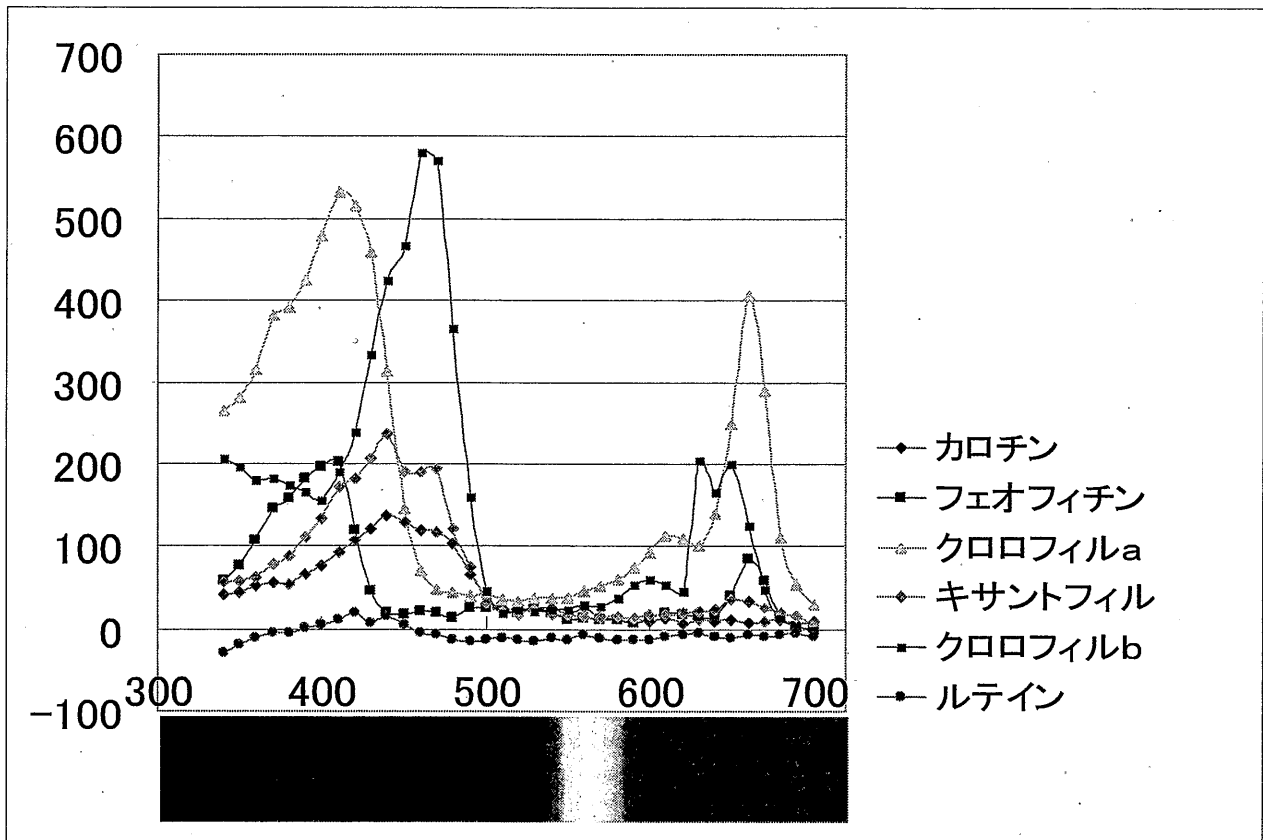
採取した色素とメタノールと分光光度計を用いる。

手順①: 実験1で採取した6つの色素(カロチン・フェオフィチン・クロロフィルa・キサントフィル・クロロフィルb・ルテイン)をこさぎ取る。

手順②: 手順①で得られた色素をメタノール2mlに溶かす。

手順③: 遠心分離機を用い得られた色素と、メタノールの二つの吸光度の差を、分光光度計を用いて測定。

(2)結果

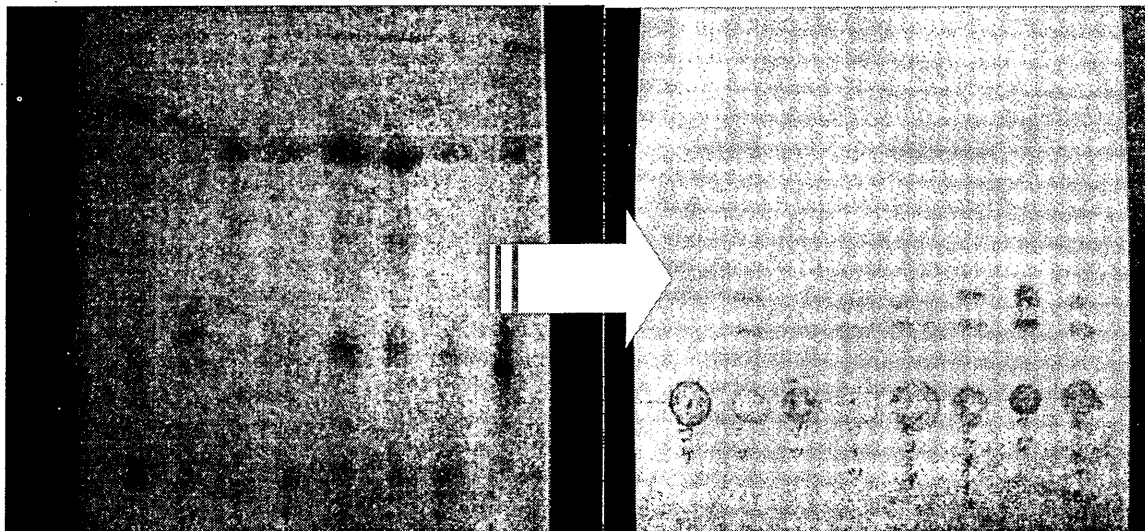


(3)考察

- ・ いずれの色素においても、緑や黄を呈する500~600nmの波長の光を吸収しないことが、葉が緑色に見えるということの原因であろう。
- ・ 色素の種類によって、吸収する波長のピークが異なっていることは、より効率よく多くの光を吸収する手段と考えられるが、これを証明するには、より多くの種類の植物を調べてみる必要がある。

5 実験3

実験後、数日経った TLC シートを見てみると灰色に変色していた。



実験直後

実験数日後

クロロフィルの色がフェオフィチンに近い色になったことからクロロフィルがフェオフィチンに変化したのではないかと仮説を立てた。そこで、TLC シートで展開したプラタナスの色素を、日向、真空、冷蔵庫、暗室、恒温室に一昼夜置き、クロロフィルとフェオフィチンの吸光度を比較した。吸光度の比較により、色素の濃度の比率が分かるからである。

(1) 実験方法

TLC シートで展開し、日向、真空、冷蔵庫、暗室、恒温室に一昼夜置いたプラタナスの色素を分光光度計にかけ、それぞれを比較。

手順①: TLC シートで展開したプラタナスの色素を、日向、真空、冷蔵庫、暗室、恒温室に一昼夜放置。

手順②: ①の放置した TLC シートからそれぞれクロロフィルとフェオフィチンをこさぎとる。

手順③: 実験2と同じ手順でそれぞれを分光光度計にかける。

手順④: ③で出た数値を、クロロフィルを1とした場合のフェオフィチンとの比率を出し比較。

(2)結果

ピーク	410(フェ)	410(クロ)	比
通常	202	532	0.38
日なた	315	2	157.5
暗室	673	12	56.0
恒温室 (40℃)	642	46	14.0
冷蔵庫	183	35	5.2
真空	572	112	5.1

※(フェ)…フェオフィチン、(クロ)…クロロフィル、

(3)考察

- ・ 真空条件で、他の条件のものより比が小さくなっていることから、フェオフィチン化は酸素が係していると考えられる。
- ・ 日向と暗室を比較すると、日向の方の比が大きい。また、暗室と冷蔵庫を比較すると、暗室の方の比が大きい。よって、フェオフィチン化は光の量や温度が原因で起こると考えられる。
- ・ 恒温条件については、納得のいく数値が出ず高温状態でより反応が進むことを証明できなかった。なので、これについては数値を取り直して正確なデータを取る必要がある。

〈参考〉クロロフィルのフェオフィチン化

- ・クロロフィルの中心には Mg が結合しており、光・湿気・分解酵素(クロロフィルの中に存在している)・酸素の働きによって、Mg が欠落し代わりに水素が結合してフェオフィチンとなることをフェオフィチン化という。
- ・身近なものとしては、急須でお茶を注いでいくと、次第に黄色がかかった色になることがあげられる。これは、お湯の熱によって分解酵素が活性化し、クロロフィルの分解が進んでいくためである。

6 感想

崎山:ひとつひとつの実験が地道な作業の繰り返しで、何度か失敗することもあったが、最終的に発表できるまでの結果が出せたことは嬉しかった。発表の内容をできるだけわかりやすくするために、何度も原稿やパワーポイントを直すなど大変ではあったが、社会で人に自分の考えなどを伝える際に何が大切なのかを知ることができた。

中里: 普段の授業では、決して体験できない貴重な体験ができてよかった。この体験をこれからの学校生活や将来大学に入学したときに活かしていきたいと思う。

村上: 実験の結果が、当初予想していたような結果にならなかったことや、実験を進めていくにつれて、疑問点や問題点が多々出たこともあり、色々大変ではあったが、最終的に納得のいく結論にたどり着くことができた。ただ、時間の制約もあり、不確実なデータを再び調べられなかったことで、結果に曖昧な点が残ってしまったことだけが心残りだった。

最後に、一年間私達の課題研究の指導をしていただいた、有吉先生、坂東先生に御礼を申し上げます。本当にありがとうございました。

*参考文献

『スクエア 最新図説生物』 吉里 勝利 監修

フリー百科事典『ウィキペディア (Wikipedia)』

Webページ: お茶の山一園本舗 (<http://www.yamaichien.co.jp>)