

OZUサイエンス生物：光合成色素の抽出（薄層クロマトグラフィー）

年 月 日 () () 時限	共同実験者
天気： () ()	

1. 目的

光合成色素を抽出し、薄層クロマトグラフィー(TLC, Thin Layer Chromatography)による分離を行い、光合成色素が本当は何種類からなるかを分析する。また、いろいろな光合成生物から抽出・分離した色素を比較し、その共通性と相違点を調べる。

2. 準備

- 材料 『乾燥海苔(紅藻類), 乾燥ワカメ(褐藻類), 青のり(緑藻類) シロツメクサ, パセリ, 粉末青汁, 紅茶』から2試料
- 薬品 メタノールならびにジエチルエーテル(抽出溶液), 10%塩化ナトリウム水溶液, 石油エーテル:アセトン=7:3の混合液(展開溶媒)
- 器具 クロマトグラフィー用ガラスコンテナ, TLCシート, 乳鉢, 乳棒, 試験管, 試験管立て, パスツールピペット, スポイト, 駒込ピペット, 鉛筆

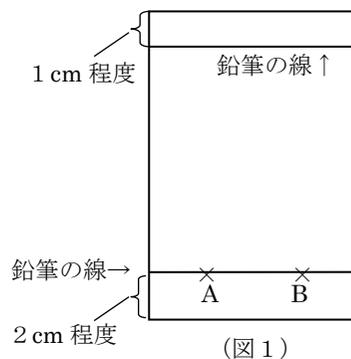
3. 実験方法

●色素の抽出

- 使用する試料(植物の葉)の葉身を、少量ずつ別々の乳鉢にちぎって入れすりつぶす。さらにプラスチックのスポイトで「メタノールを5 mL」程度加え、乳棒を用いて十分にすりつぶす。
- 抽出液を、「小さな乳鉢からは直接」、「大きな乳鉢からはパスツールピペットを使って」試験管に移す。
- 教卓に行き、試験管に「ジエチルエーテルを2 mL」加えてもらい、軽く攪拌(かくはん)する。さらに、「10%塩化ナトリウム水溶液」をプラスチックのスポイトで少しずつ加えていき、液が2層に分かれるのが確認できたら加えるのをやめる。この『上層が色素抽出液』である。

●スポットティング

- TLCシートの下から2 cm のところに鉛筆(もしくはシャープペン)で薄く線を引き、線上に2点を取る(図1参照)。このときシート表面のコーティングを剥がさないよう気をつけること(以下同様)。
- (4)の反対側から1 cm のところに、鉛筆(もしくはシャープペン)で薄く線を引く。
- 試験管の上層の色素抽出液だけ(下層の液体を吸い取らないように注意!!)を長いパスツールピペットで吸い(ゴム帽をつけずに毛細管現象で吸い上げる),(4)で×印をつけたAに、点がるべく小さくするように浸みこませる(この操作をスポットティングという)。色素液が乾いたら再びつけ、これを10回ほど繰り返す。
- もう1つの試料から抽出した色素抽出液をBにつける。



●展開

- スポットティングしたシートの鉛筆の線より下側を、ガラスコンテナ内の展開液に浸す。このとき、色素が絶対に展開液に浸らないように注意すること。ふたをして変化を観察する。ガラス容器には2枚(2班分)のTLCシートを並べてセットする。
- 展開溶媒が上端の線まで上がってきたら、容器からTLCシートを取り出し記録する。色素はすぐに退色するため、写真を撮っておくとよい。このとき、上端の鉛筆線が展開前線となる。

●その他

- 各色素のRf値を計算で求める。

4. 結果

下図中に結果をスケッチせよ。主要(色の濃い)色素を上(展開前線側)から①・②・③…とおく。各色素のスポットの色,最初にスポットした点(原点)から各色素のスポットの中心点(最も色の濃い部分)までの距離(各色素の移動距離)を定規で測定して表に記録し,Rf値を計算せよ。

(スケッチ)

(↓展開前線↓)
× × A B

(表;スポットの色,原点からの距離(mm),Rf値)

	A			B		
	色	原点からの距離(mm)	Rf値	色	原点からの距離(mm)	Rf値
①						
②						
③						
④						
⑤						
⑥						
⑦						
原点～展開前線までの距離(mm)						

$$Rf \text{ 値} = \frac{x}{y}$$

x; 原点～各色素の中心までの距離
y; 原点～展開前線までの距離

5. 考察

- TLCの結果,試料A・Bそれぞれの光合成生物は,何種類の色素を含んでいるといえるか。また,Rf値の同じ物質の色,同じ色の物質のRf値をそれぞれ比較すると,何か関連性が見出されたか。
- 各色素の色やRf値から考えて,それぞれの色素は何であると考えられるか。
- TLCシートへの記入の際,鉛筆(あるいはシャープペン)を用いる理由は何か。
- 展開(色素の分離)操作中,TLCシートをガラスコンテナに密閉しておくのはなぜか。
- 秋のイチョウなど,黄色に色づいた葉を用いてこの実験を行うとどうなると予想されるか。

6. 感想・反省等

年	H	番	氏名
---	---	---	----