

1968年
3月30日発行
「生物室」
No. 2

9. ペーパークロマトグラフィー

図 1

鳥 崎 路 江

1. 豆からの色素の抽出と分析

準備

大型試験管、試験管立て、広口びん、ハサミ、製冊用紙、ものさし、スポイト、ガーゼ、ろ紙、各材料植物の葉

試料

エチルアルコール 3、アセトン 1 の割合、トルオール

実験方法

- 1) 必要な材料葉を数枚用意して、ハサミで細かくきざむ。
- 2) 広口びんにエチルアルコール3、アセトン1の混合溶液を入れ、その中に細かくきざんだ葉を入れる。
- 3) そのまま静置して24時間置いておく。
- 4) ろ紙を用意し下から3 cm 内外の所に線を引き、スポイトに色素液を入れ数回しみ込ませる。
- 5) そのろ紙をゴムゼんのきれ込みにはさみ、3 cm 内外の深さにトルオールを入れた大型試験管の中に下端がトルオールに浸るように入れ、そのまま置く。
- 6) 60～90分後、展開液の先端部が原線から15～20 cm の距離まで上昇したら、取り出して、展開液が乾かないうちに急いで展開液の先端部、展開した色素に印をずる。
- 7) その試料からRf値(移動率)を計算して、ろ紙上の吸着物を判定する。

Rf 値とは $R_f = \frac{Pa}{e}$ of flow の略である。

$$R_f = \frac{\text{物質の移動した距離}}{\text{溶媒のしみ込んだ距離}}$$

移動率とはろ紙にしみ込んだ展開液の長さとか色素の長さの比を求めたものである。各物質によってろ紙上の位置がほぼ決まっているので移動率により、物質の種類を判定することができる。

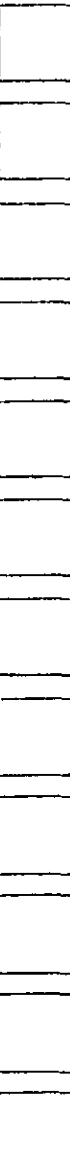


図 1 草木植物の分析結果 (緑色植物)

展開液トルオール

× 原点 ● 葉緑素 ○ カロチノイド、キサントフィル

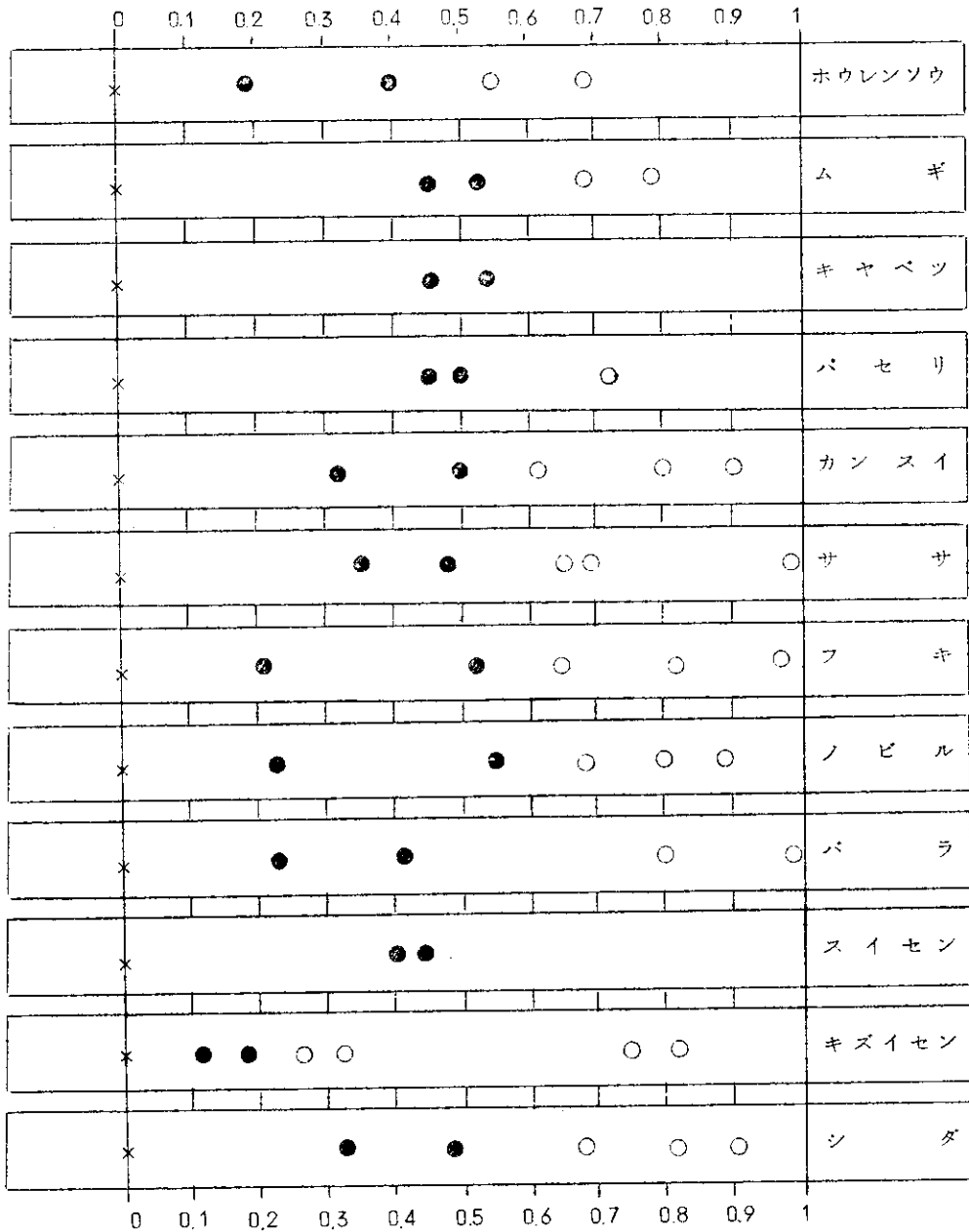


図 2

紅葉植物の分析結果

展開液 トルオール

× 原点 ● 葉緑素 ○ カロチノイド、キサントフィル

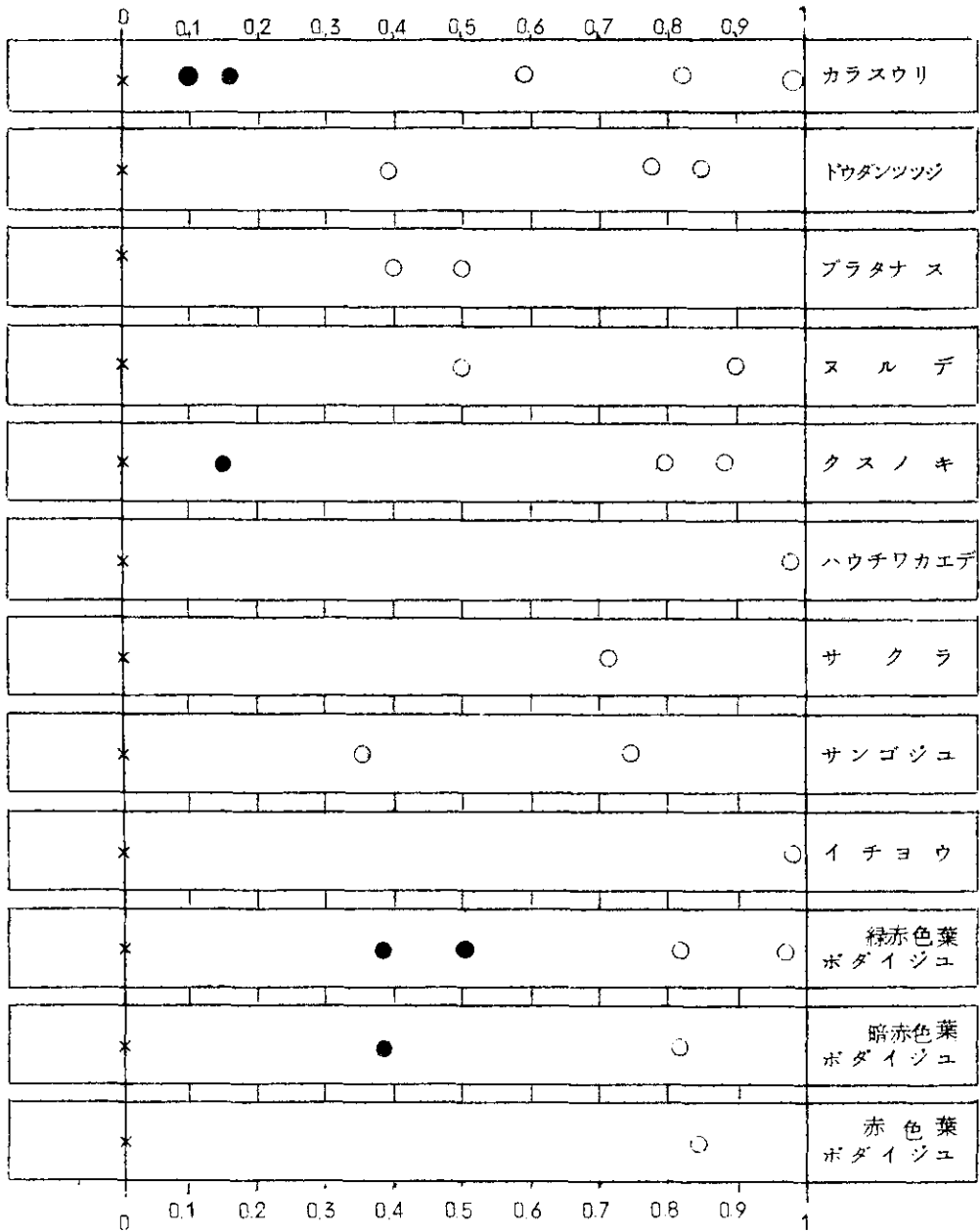


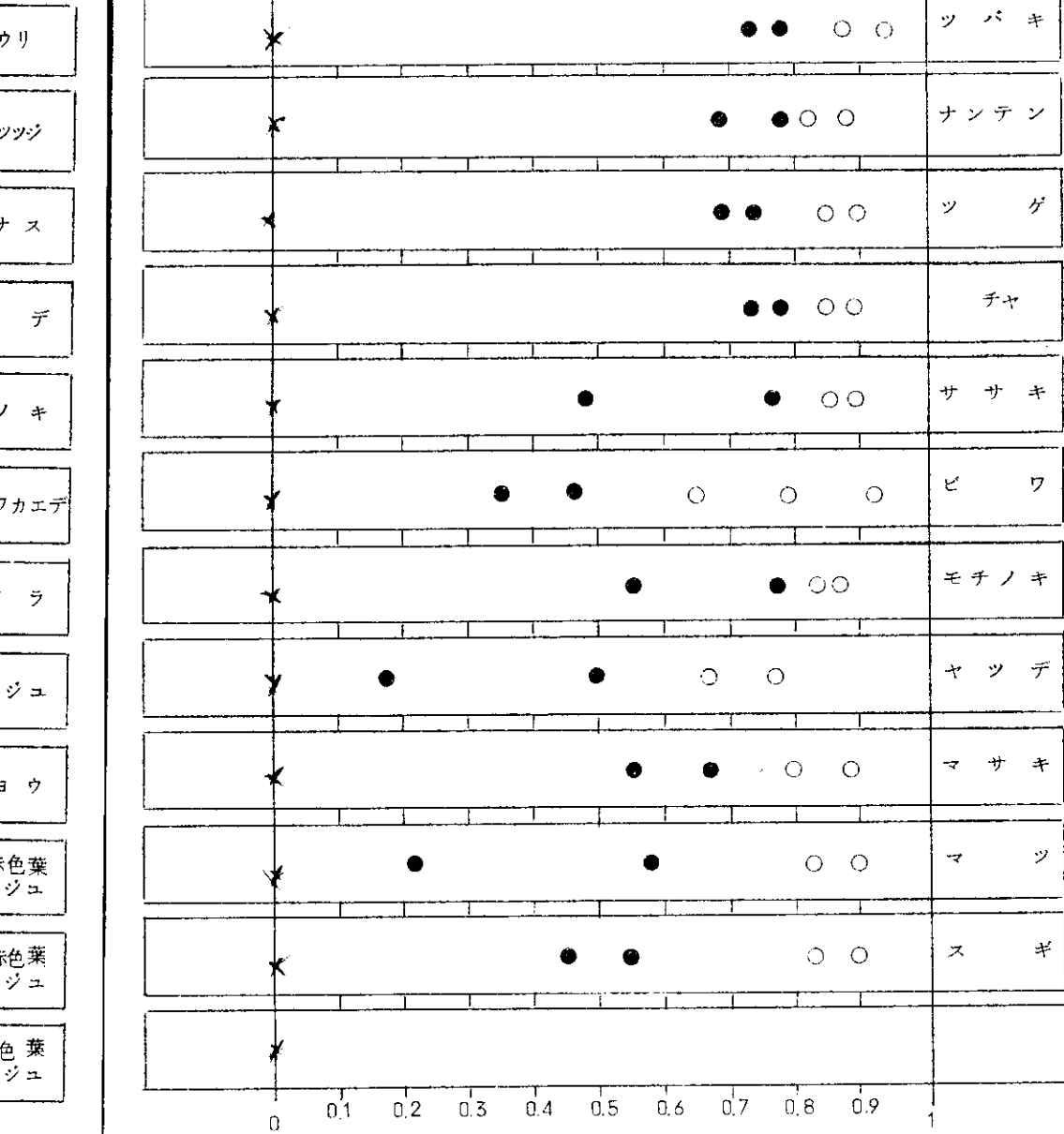
図 3

図 3

多年性木本植物の分析結果

展開液 トルオール

× 原点 ● 葉緑素 ○ カロチノイド
0 0.1 0.2 0.3 0.4 0.5 0.6 0.7 0.8 0.9 1



実験の結果と考察

1. 普通の緑色葉に含まれる色素の分析結果について

まず緑色植物の分析結果を見ると図のような結果が得られた。これを原点から近い順に見ていくと、やや暗褐色がかった狭雑物①、淡黄緑色②、緑色③の順にクロマトグラフが描かれ、その上に黄色のスポット④が2〜3続き、もっと上部に赤色がかったスポット⑤が続く。そして一般には②が葉緑素b、③が葉緑素a、④がピオラキサンチン、ルテインを主としたカロチノイド及びキサントフィル、⑤がベータカロチンとされている。この結果のRF値は、ある範囲内に収まらないことが多いので、それをもとにして葉緑素aかbかを決定するのはやや困難である。むしろこのような定性的分析の場合には、クロマトグラフの色から判定する方がより正確と思われる。外見上緑色の葉でもその陰にかくれた状態でキサントフィル系、カロチノイド系の色素がある。しかし両者の色素がすべて黄色、赤というような特徴をもつわけではない。ベータカロチンは割合ははっきりとした赤色のスポットを生じるが、他はほとんど同じような黄色を生じる。したがって、緑色中に含まれるルテインやピオラキサンチンのようにはっきりした値を示す色素以外のものは、正確な判定を下すことはほとんど不可能である。このように考えるとこの実験からは、黄緑、緑、黄色、赤色の4系統の色素が含まれていると定するのが限度であろう。

2. 紅葉植物の葉に含まれる色素の分析結果について

まず緑赤色、暗赤色、赤色、黄色と進む紅葉の葉を分析してみると、緑赤色、暗赤色の段階の葉ではルテインやカロチノイド系の色素のほか葉緑素が検出されるのに対して、赤色、黄色の葉では、ほとんど葉緑素が検出されないこと、暗赤色の場合は、今まで存在していた葉緑素a・bのいずれか一方がすでに破壊されていることなどがわかった。そしてこのうつりかわりは、図②の紅葉植物で認められた。

3. 緑色以外の色をもつ冬葉、冬芽の分析結果について

冬のスギのように夏とはだいぶ異なった色彩をもつようになるか、外見上とは違ってそれらを実際に分析してみると、それを構成している色素は同じであり、やや暗赤色を呈するツバキやナンテンなどの葉ではもちろんのこと、ほとんど褐色に見えるスギの葉でも葉緑素の存在をはっきりと認めることができる。それ以外の色素についても葉緑の場合とはほとんど変わらない。しいていえばカロチノイド系やルテインの色素が非常に鮮明にあらわれしかもその数が若干多い。

ナンテンの若い芽ではカロチノイド系の色素のみが検出されて葉緑素は全く認められないが、少し成長するとその存在が認められるようになり、他の植物からも同様な傾向がみられる。このことから葉緑素が他の色素よりも一歩おくれて2次的に形成される色素であることがわかる。