

「薄層クロマトグラフィーを用いた光合成生物の光合成色素分離」

理科 東 貴子

1 はじめに

「生物」の最終章において生物の系統および多様性について学習する。光合成生物は5界説におけるモネラ界，原生生物界，植物界にわたって属しており，シアノバクテリアや光合成細菌，藻類，陸上植物（コケ植物，シダ植物，種子植物）などが光合成を行う（図1）。これらの生物は光エネルギーを吸収する光合成色素を持ち，色素の種類は多岐にわたるとともに，近縁のものは共通の光合成色素を持つ。

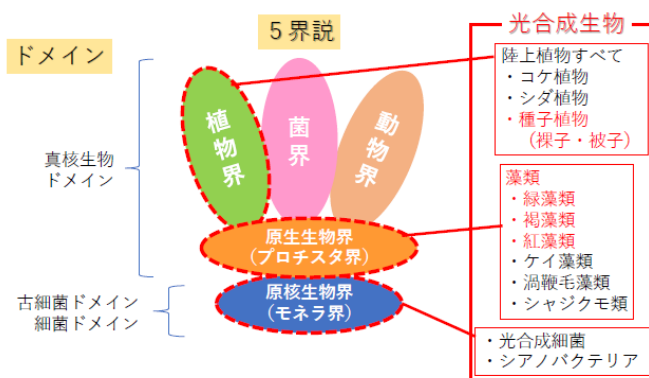


図1 光合成生物の分類

今回，生徒実験において緑藻類，褐藻類，紅藻類，種子植物を用いて光合成色素の分離実験を行い，検出された色素の種類から該当する生物を考えさせ，系統関係を考察できないかと考え，実験を計画した。色素の分離においては，用いる試薬の量が少なく鋭敏に色素を分離できる薄層クロマトグラフィーを用いた。

2 予備実験と生徒実験の実際

試料として用いる生物の選定を行った。色素を抽出するためにはすりつぶして粉末状にする必要がある。市販されている海藻や植物等をミルサーや乳鉢を用いて粉末化を試みた。また，粉末化できたものはアセトンで抽出し，薄層クロマトグラフィーで色素分離を行った。（表1，図2）。

表1 用いた生物の粉末化と薄層クロマトグラフィーの様子

生物名	商品名・状態	粉末化の様子	クロマトグラフィーの様子
アナアオサ (緑藻類)	「青粉」 乾燥	乳鉢ですぐ粉末化	色素分離できた。
ワカメ (褐藻類)	「カットワカメ」 乾燥	乳鉢ですぐ粉末化(ただし湿気ると時間がかかる)	色素分離できた。
コンブ (褐藻類)	「だし昆布」 乾燥	固くてミルサーでも粉砕が難しい	実施せず
	「こぶ茶」 乾燥	粉末の状態でも市販	分離できるが色素の種類が少なく薄い
テングサ (紅藻類)	「天草」 乾燥	ミルサーで粉砕できるが，細かい粉末状にならない。	色素分離できなかった。
スサビノリ (紅藻類)	「もみのり」 乾燥・加熱	ミルサーで粉砕できるが，細かい粉末状にならない。	色素分離できた。
	「磯のり」 乾燥・非加熱	ミルサーで粉砕できるが，細かい粉末状にならない。	色素分離できた。
チャ (種子植物)	「抹茶(深むし茶)」 乾燥	粉末の状態でも市販	色素分離できた。
ヨモギ (種子植物)	校庭で採取 生の状態	乳鉢で粉末(ペースト)化できる	色素分離できたが，水分を含むためテーリングを起こした。



図2 用いた生物

用いた生物のうち、粉末化しやすく色素分離ができる「青粉」「カットワカメ」「抹茶」「磯のり」の4種を試料とした。「磯のり」は粉碎に時間がかかるため、予め粉碎したものを生徒実験で用いた。また、光合成色素のうち、紅藻類がもつフィコエリトリン（紅色）は水溶性色素であるため、アセトンには溶出しない。よって、試料の水抽出を予め行い、生徒実験で提示し、上澄みの色を判断させた（図3）。スサビノリはフィコエリトリンをもつが、加熱処理した「もみのり」ではほとんど確認することができず、非加熱の「磯のり」では確認することができた。また、Rf値を予め求めて参考値として生徒に提示し、生徒実験を行った。（別紙1，別紙2）。



図3 水抽出液

3 授業を終えて

学習指導案を作成し、研究授業を行ったが、指導案の計画内容を1時間で終わらせることができず、次時にまとめと考察を行った。カットワカメを吸湿できる状態でしばらくおいていたため湿気を吸ってしまい、すりつぶす作業に時間がかかってしまったことや、生徒の作業スピードを実際よりも早めに想定していたことなどが原因だったと考えられる。石英砂やシリカゲルを加えてすりつぶし作業をすると、もっと時間の短縮ができるかもしれない。

分離した色素の色の見分けは難しく、判別ができない生徒が多く見られた（図4）。授業研究では、展開の途中で色の確認をさせることや、事前学習の必要性についてアドバイスをいただいた。また、実験の説明を分けて段階的に行うことや、器具の使い方や意味を理解させておくことの必要性、手順を視覚的に提示することなど、多くのアドバイスをいただいた。

授業中の生徒の取組みは積極的であり、楽しみながら実験に取り組む様子が見られた。また、今回は4種類の試料がどの生物なのか伏せておき、実験結果から考察する形式で実施した。答えを当てる形式にすることで興味関心を高め、理解を深めることができたのではないかと考える。

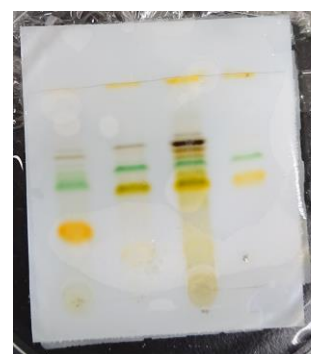


図4 展開の様子

4 参考文献

- ・神谷 充伸 他. 2012. ネイチャーウォッチングガイドブック海藻. 誠文堂新光社
- ・浜島書店編集部. 2020. ニューステージ生物図表. 浜島書店
- ・<https://apec.aichi-c.ed.jp/kyouka/rika/seibutsu/2018/busshitsu/chromato/chromato.htm>
- ・<http://www.makasaka.net/seibutu/chromato/chromato.html>

5 謝辞

研究授業を実施するにあたり、校長、教頭、理科の先生方をはじめ、多くの先生方にご指導・ご助言をいただきました。改めて感謝申し上げます。

生 物 学 習 指 導 案

学 校 名 鹿児島県立屋久島高等学校
 指導日時 令和2年12月22日(火)第6校時
 対象学級 普通科(理系) 3年1組 生物選択者
 (男子3名 女子13名 計16名)
 場 所 生物実験室
 授 業 者 東 貴子

1 単元名 第9章 生物の系統 2節 生物の多様性

2 単元の考察

生徒は中学校では、第2分野「(1)植物の生活と種類」、 「(3)動物の生活と生物の変遷」で、動物や植物が体のつくりの特徴に基づいて分類できることを学習している。

ここでは、生物はその系統に基づいて分類できることを理解させることが狙いである。そのため、分類群同士の系統関係を取り上げる。分類群としては、ドメインや界・門などの高次の分類群を中心に扱う。その際、DNAの塩基配列などを比較することによって系統関係が調べられていることを取り上げることが考えられる。なお、ここでは個々の分類群について詳細に学習するのではないことに留意する必要がある。

本時では、光合成生物4種類の光合成色素を薄層クロマトグラフィーで分離し、分離した色素の色とRf値、水抽出液の色からどの試料がどの生物に該当するか考え、系統関係を考察する。実験をとおして学習内容の理解を深めるとともに、科学的に探究する能力を高めさせることができると考えられる。

3 生徒の実態

対象学級は3年普通科理系クラスの生物選択者である。1年次に「科学と人間生活」を履修し、2・3年次は「生物基礎・生物」と「化学基礎・化学」を履修している。授業中は真面目に学習に取り組み、発問に答える積極性がある。

4 単元の指導目標

①生物はその系統に基づいて分類できることを理解させる。

②系統に関する探究活動を行い、学習内容の理解を深めるとともに、生物学的に探究する能力を高めさせる。

5 単元の指導計画

章	節	主題	配当時間数
生 9 物 の 系 統	1 生物の系統	1 生物の分類 2 生物の系統	} 1
	2 生物の多様性	1 生物の分類体系 2 細菌(バクテリア) 3 古細菌(アーキア) 4 真核生物(ユーカリア)	

6 本時の実際

- (1) 主 題 名 光合成生物の光合成色素の分離
 (2) 目 標 光合成色素の薄層クロマトグラフィーを行い、光合成生物の分類および系統関係を考察する。
 (3) 使用教材 教科書『改訂版 生物』(数研出版)
 資料集『サイエンスビュー生物総合資料』(実教出版)

(4) 評価基準

- ・発問に対し、意見を言うことができるか。授業に集中していたか。(関心・意欲・態度)
- ・意欲的に実験に参加していたか。(関心・意欲・態度)
- ・実験の結果から光合成生物の分類と系統関係を考察できたか。(思考・判断)
- ・光合成生物の多様性と系統関係について理解できたか。(知識・理解)
- ・役割を分担し、共働して作業・分析を行えたか。(主体性・共働)

(5) 本時の展開 (50分)

過程	時間	主な学習活動	指導上の留意点, 評価基準 (○)
導入	5分	<ul style="list-style-type: none"> ・本時の目標を理解する。 ・実験の手順を理解する。 	<ul style="list-style-type: none"> ・出席確認, 実験プリントの配布。 ・本時の目標を提示し, 実験の手順を説明する。試料の現物(商品の状態)を見せる。 <p>○意欲的に説明を聞いているか【関心・意欲・態度】</p>
展開	33分	<p>【実験】</p> <ul style="list-style-type: none"> ・乾燥した光合成生物をすりつぶし, マイクロチューブに入れ, アセトンを追加しかき混ぜて静置し, 抽出液とする。 ・TLCシートに鉛筆で目印をつける。 ・毛細管で試料A~DをTLCシートに付着させる。 ・展開液の入ったビーカーに入れ, 展開を行う。展開が終了したらシートを取り出し, 溶媒前線を鉛筆でなぞり, 水に浸す。 <p>【結果】</p> <ul style="list-style-type: none"> ・シートに分離した色素の色を把握し, Rf値を求め, 表に書き込む。 ・各生物の水抽出液の色を記録する。 	<ul style="list-style-type: none"> ・安全に留意しながら, 実験を行わせる。(抽出液, 展開液を吸わないように注意) ・試料C, Dについては予めすりつぶして用意しておく。(時間がかかるため) <p>〔試料 A ; ワカメ (褐藻類) B ; アナアオサ (緑藻類), C ; チャ (種子植物) D ; スサビノリ (紅藻類)〕</p> <p>○器具の扱いは適切か【知識・理解】</p> <ul style="list-style-type: none"> ・水抽出液は予め用意しておく。(スサビノリは非加熱のものを用意する) <p>○積極的に取り組んでいるか【意欲・態度】【思考・判断】</p>
展開	7分	<p>【考察】</p> <ul style="list-style-type: none"> ・実験結果と参考資料から試料A~Dはどの生物に該当するかグループで考える。 ・3種類の藻類のうち, 陸上植物と近縁な生物はどれかグループで考察する。 ・グループごとに発表する。 	<ul style="list-style-type: none"> ・グループごとに考えさせる。 ・発表者を一名決めさせて, グループごとに発表をさせる。 ・水抽出液とアセトン抽出液では色が違う理由についても考察させる。 <p>○積極的に考えているか【意欲・態度】</p> <p>○実験結果と参考資料をもとに適切な考察ができたか【思考・判断】</p>
まとめ	5分	<ul style="list-style-type: none"> ・本時のまとめ ・片づけを行う。 	<ul style="list-style-type: none"> ・本時のまとめを行う。 ・藻類の光合成色素と生育環境との関係についても説明する。 ・片づけをさせる。

生物実験

光合成生物の光合成色素の分離

【目的 purpose】

光合成色素の種類に注目し、原生生物の藻類および植物の系統関係を実験をとおして考察する。

【準備するもの preparation】

(生物) 試料A～D (試薬) 抽出液；アセトン，展開液；石油エーテル：アセトン＝7：3
(道具) 乳棒2本，乳鉢2個，葉さじ2本，1.5mL マイクロチューブ4本，毛細管4本，楊枝4本，3mL 駒込ピペット1本，TLCシート(シリカゲル) 6cm×7cm 1枚，鉛筆1本，200mL ビーカー，ラップ

【方法 methods】

抽出 (1) 試料A・Bをそれぞれ乳鉢に入れ，乳棒ですりつぶす。(C，Dは用意してある)

(2) (1)を葉さじでマイクロチューブの半分程度入れ，駒込ピペットでアセトンをマイクロチューブの7割位になるまで加える。楊枝でかき混ぜ，5分程度静置する(静かにおく)。
※アセトンは有機溶媒(脂溶性物質を溶かすことが出来る)。

展開 (3) (2)を行っている間に，TLCシートの下端から1cmの位置にそれぞれ鉛筆で薄く線を引く。下端の中心にマーク(×印)を等間隔で4つけ，それぞれ原点とする。

※この時、シリカゲルを削り落とさないように注意する。

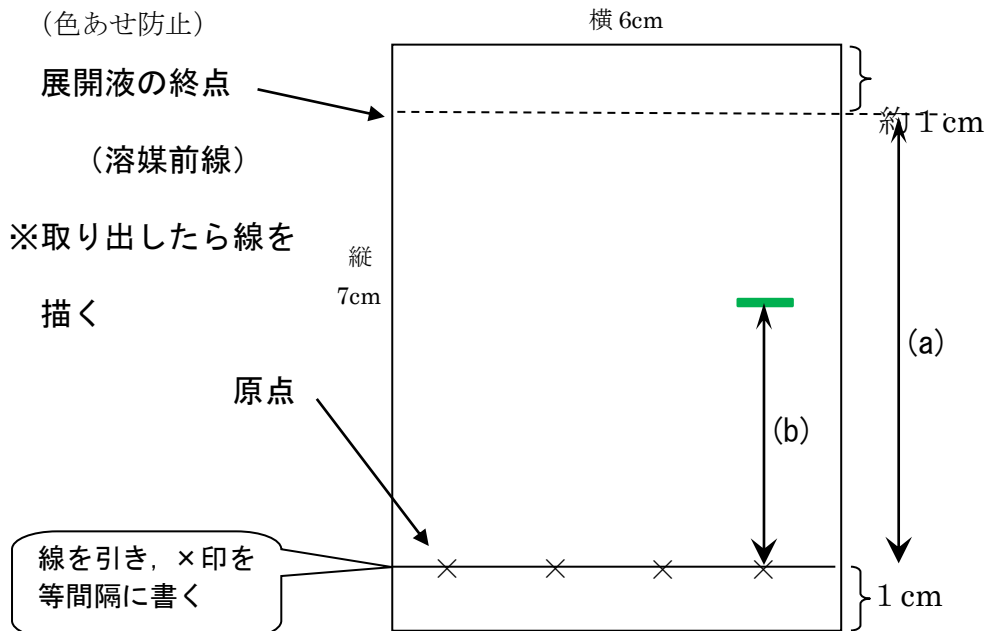
(4) 毛細管を使って(2)の試料A～DをTLCシートの原点(×印)につける。

※色素のスポットはできるだけ小さく(5mm以内)，濃い方が望ましい。一回つけたら乾くまで待ち，再びつける。これを4，5回繰り返す。

(5) 展開液の入ったビーカーに(4)のTLCシートを静かにまっすぐ入れ，ラップでふたをする。※展開液は必ず原点の下にくるように！

(6) 十分に展開するまで静置する(10分程度)。上端のから1cmのあたりまで展開したら取り出す(溶媒前線)。

(8) 展開液が乾かないうちに鉛筆で溶媒前線をなぞって線を引き，水に浸して取り出す。(色あせ防止)



$$Rf \text{ 値} = \frac{\text{原点から各色素の中心までの距離 (b)}}{\text{原点から展開液の終点 (溶媒前線) までの距離 (a)}}$$

【結果 results】

(1) 各試料から分離された色素に○をつけ、Rf 値 (rate of flow) を求めよ。
(四捨五入して小数点以下第2位まで)

光合成色素				試料の R f 値					
特徴	名称		色	参考 Rf 値	A	B	C	D	例
脂溶性	カロテノイド	カロテン (βカロテン)		橙黄	0.9~1.0				○ 0.91
	クロロフィル	クロロフィルa		青緑	0.6~0.7				
		クロロフィルb		黄緑	0.5~0.6				○ 0.52
	カロテノイド	キサントフィル	ルテイン	黄	0.5~0.6				
			フコキサンチン	褐	0.3~0.4				
クロロフィル	クロロフィルc		黄緑	約0.1					

(2) 試料の水抽出液の色を書け。
(水抽出液は予め用意してある)

	A	B	C	D (非加熱)	D' (加熱処理)
水抽出液の色					

【考察 discussion】

(3) 今回用いた生物とその分類は以下の通りである。実験結果と参考資料から、試料A~Dはどの生物だと考えられるか。また、そのように判断した理由も説明せよ。※ただし、Bは藻類である。

- ①スナビノリ (紅藻類) … () ②ワカメ (褐藻類) … ()
 ③アナアオサ (緑藻類) … () ④チャ (種子植物) … ()

[参考資料]

特徴	光合成色素			原生物界			植物界
	名称	色	紅藻類	褐藻類	緑藻類	植物	
脂溶性	カロテノイド	カロテン (βカロテン)	橙黄	◎	◎	◎	◎
	クロロフィル	クロロフィルa	青緑	◎	◎	◎	◎
		クロロフィルb	黄緑			○	○
	カロテノイド	キサントフィル	ルテイン	黄	◎		◎
			フコキサンチン	褐		◎	
クロロフィル	クロロフィルc		黄緑		○		
水溶性	フィコビルリン	フィコエリトリン	紅	◎			
		フィコシアニン	青	○			

理由 ;

.....

(4) 藻類のうち、陸上植物と近縁なのはどれだと考えられるか。 ()
理由 ;

(5) 気づいたこと・感想

.....

(年 月 日) 報告者 ; 年 組 番 氏名