

投稿類別：生物類

篇名：

光合色素層析的探討與改進

作者：

楊政燁。嘉義高中。高二 18 班

周伯宇。嘉義高中。高二 18 班

余承哲。嘉義高中。高二 18 班

指導老師：

鄒宏鑫老師

壹、前言

一、動機：

在濾紙層析的實驗中，利用層析來分離不同的光合色素，並測量其 Rf 值。在實驗中指定使用石油醚和 90%丙酮其比例是 9：1。我希望了解是否在不同溶劑甚至不同濃度比例的展開液中，可能使色素的分離效果更佳。

二、目的：

1. 石油醚與丙酮以不同比例混合，結果有何差異？
2. 以不同種類的溶劑進行實驗，結果有何差異？

三、研究過程及方法：

(一)純液在濾紙的上升情形

1. 將水、丙酮、石油醚、乙醚、乙醇分別倒入量筒內，以鋁箔紙密封，靜置十分鐘。
2. 取長條濾紙，從濾紙底端開始算起以 0.1 公分為最小單位畫上刻度後將長條濾紙放入量筒，使濾紙 0.5 公分高處浸至液面，固定濾紙，再用鋁箔紙密封。
3. 每隔 5 分鐘紀錄展開液上升的高度，至 30 分鐘後將紀錄結果繪製成圖表。

(二)不同濃度比例展開液的展開效果

1. 將烘乾菠菜捏成碎片，再置於研鉢內磨成粉末，加入 5ml(90%)丙酮再研磨，使粉末成泥漿狀，將此葉泥漿放入一塊雙層紗布中過濾，再用手捏擠葉泥漿，使其中的汁液盡量流出來。
2. 取一長條濾紙，以毛細管吸取色素液，點在距濾紙尖端 3 公分處。每濾紙以毛細管取三次色素液點上，並打開吹風機讓溶劑更迅速乾掉。
3. 將石油醚和 90%丙酮以整數比例，配製不同展開液各 5ml 後，倒入 50ml 量筒中。
4. 在室溫下進行色層分析，展開液通過色素點 15 分鐘後取出濾紙。
5. 取出層析濾紙並以數位相機拍照後將濾紙黏貼在紙面上。
6. 記錄各種色素的上升距離，並求出 Rf 值以分析。

(三)不同溶劑所產生的變化

1. 將石油醚與乙醚以不同的整數比例混合後各配製 5ml 當作展開液
2. 在室溫下進行色層分析，展開液通過色素點 15 分鐘後取出濾紙。
3. 取出層析濾紙並以數位相機拍照後將濾紙黏貼在紙面上。
4. 求出 Rf 值後與實驗二的結果比較
5. 將石油醚與乙醇以不同的整數比例混合後各配製 5ml 當作展開液，再重複進行步驟 2~4。

6. 將石油醚與戊醇以不同的整數比例混合後各配製5ml當作展開液，再重複進行步驟2~4。

貳、正文

一、純液在濾紙的上升情形

90%丙酮、石油醚、水、95%乙醇在濾紙的上升情形如表 1.及圖 1.。上升最快的是丙酮，其次是石油醚，水則最慢。三者上升的速率不固定，最初 10 分鐘左右速度較快，其後逐漸變慢。在 30 分鐘後，三者的時間-高度曲線趨於直線，表示上升的速度都趨於穩定。而乙醚的上升速度原本比丙酮快，但因其揮發旺盛，所以 15 分鐘後濾紙上的乙醚會因揮發而無法觀測。

表 1. 丙酮、石油醚、水、乙醇在濾紙上升的距離與時間關係(單位：mm)

時間(分)	0	5	10	15	20	25	30
90%丙酮	0.0	50.0	73.5	90.5	103.0	114.0	123.5
石油醚	0.0	49.5	70.0	84.5	95.0	103.0	110.5
水	0.0	20.5	36.5	48.0	57.5	66.0	73.5
95%乙醇	0.0	36.5	50.0	67.5	76.0	84.0	91.5

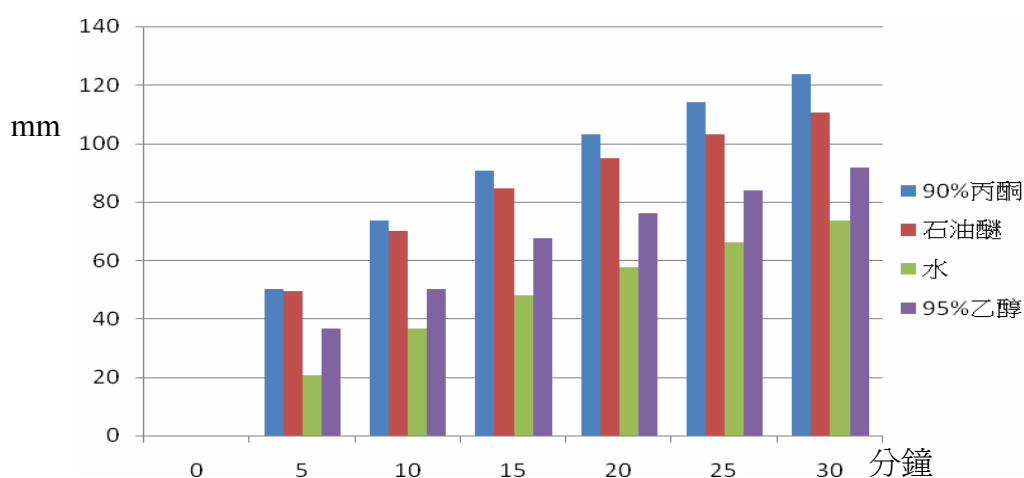


圖 1.90%丙酮、石油醚、水、95%乙醇在濾紙上升高度與時間關係

二、不同濃度比例展開液的展開效果

以 90%丙酮配製展開液，結果如圖 1.。石油醚與 90%丙酮的含量比例小於 7：3 時無法分離色素。石油醚：90%丙酮=9：1 及 8：2 展開液色素分離效果最好。色素的排列順序都是橙黃色的胡蘿蔔素、黃色、青綠色的葉綠素 a、和黃綠色的葉綠素 b。若只用石油醚做展開液，則只有胡蘿蔔素位於展開液的最前緣，其餘色素都集中在起點附近。

表二. 以石油醚與 90%丙酮 10 : 0、9 : 1、8 : 2 配製展開液的色素層析 Rf 值

石油醚 : 90%丙酮	10 : 0	9 : 1	8 : 2
胡蘿蔔素	1	1	1
葉黃素	0.31	0.65	0.93
葉綠素A	0.26	0.46	0.81
葉綠素B	0.22	0.28	0.65

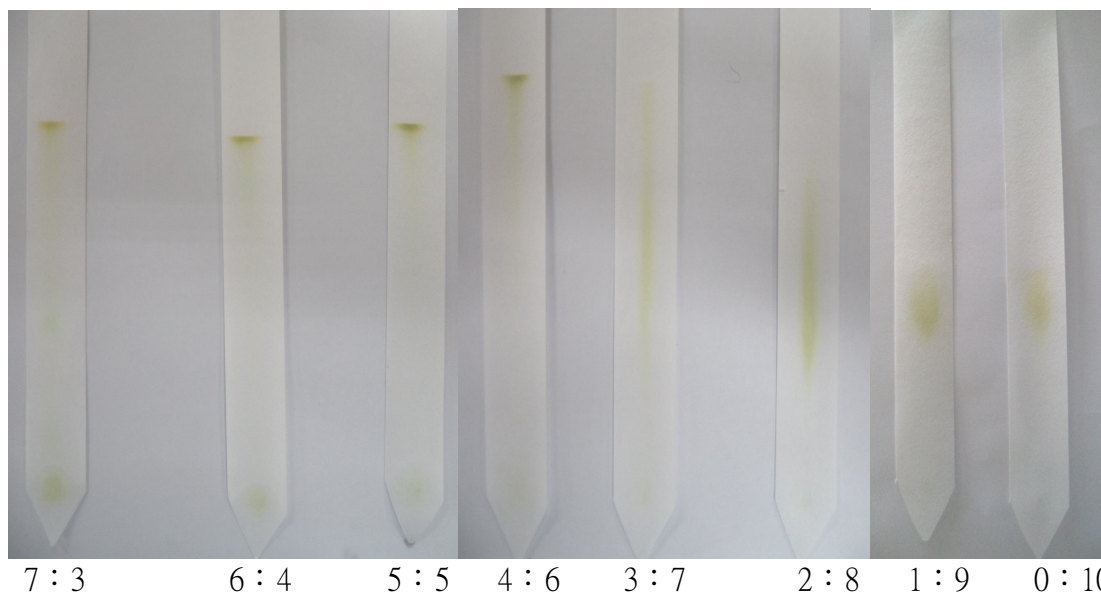
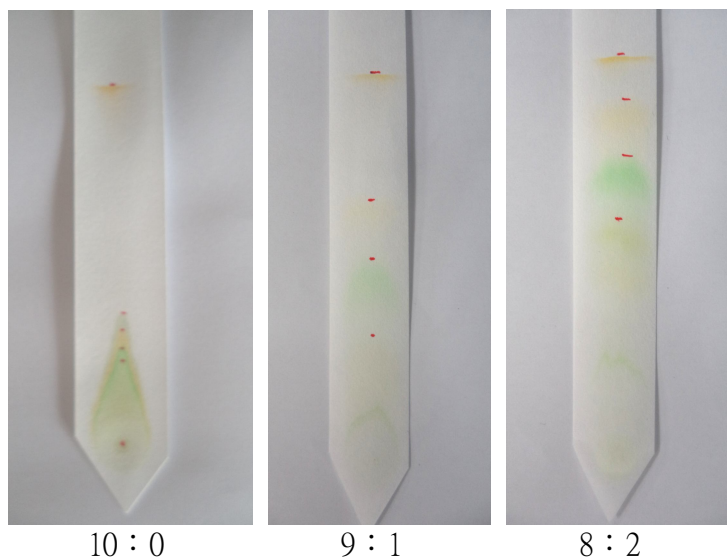


圖 2. 以石油醚與 90%丙酮以不同比例配製展開液的色素層析結果。圖下數字為石油醚與丙酮的比

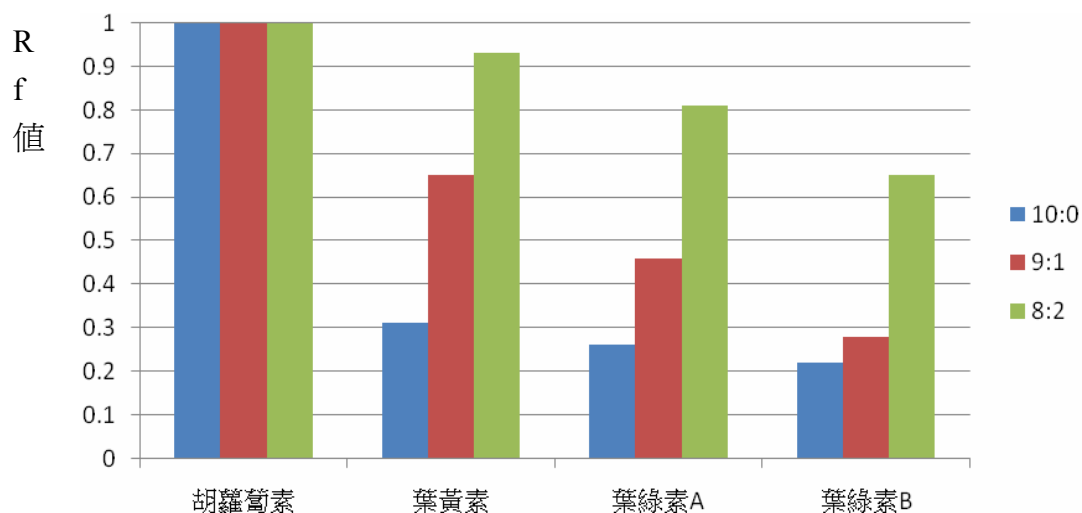


圖 3. 將石油醚與 90%丙酮以 10：0、9：1、8：2 的比例進行濾紙層析後所得的 Rf 值關係

三、不同溶劑所產生的變化

(一) 將石油醚與乙醚以不同整數比例混和後做為移動相，進行十五分鐘的濾紙層析實驗，其結果如下：

表三.將石油醚和乙醚以不同整數比例混和後，進行濾紙層析十五分鐘後，四種色素的 Rf 值

石油醚：乙醚	9：1	8：2	7：3	6：4	5：5	4：6	3：7	2：8
胡蘿蔔素	0.219	0.391	0.514	0.621	0.901	0.948	1	1
葉黃素	1	1	1	1	1	1	1	1
葉綠素 A	0.162	0.236	0.336	0.444	0.743	0.877	0.923	0.945
葉綠素 B	0.124	0.145	0.196	0.25	0.498	0.698	0.769	0.784

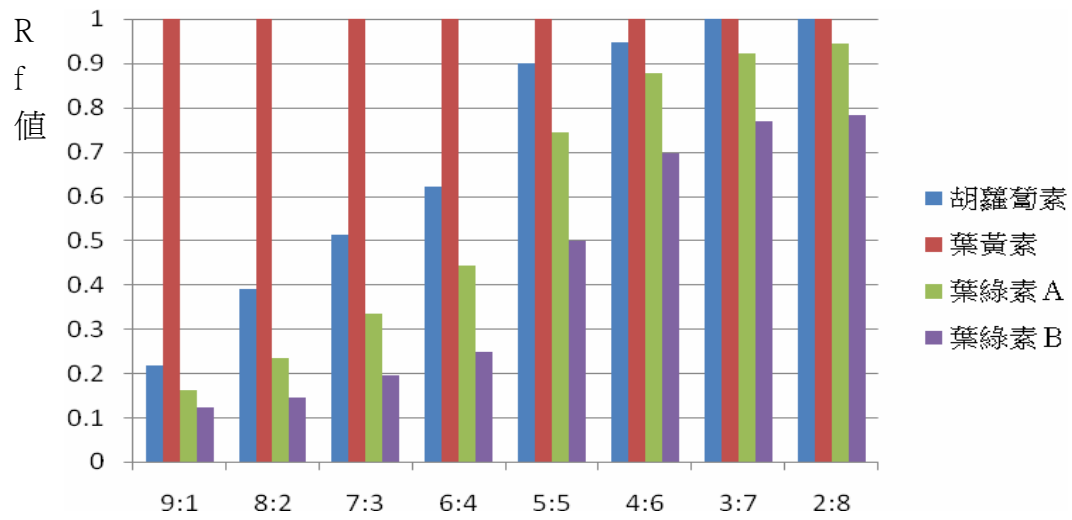
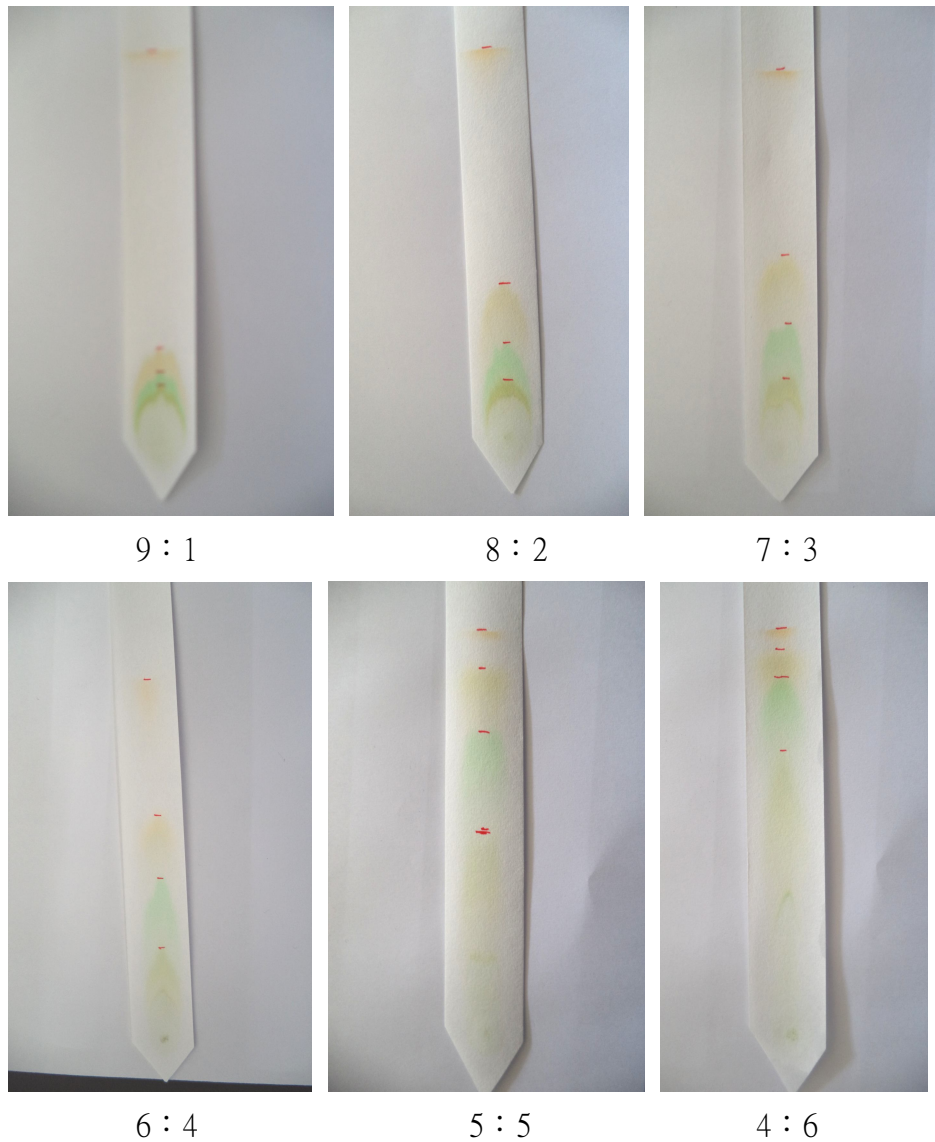


圖 4. 將石油醚和乙醚以不同整數比例混合作為展開液進行十五分鐘的濾紙層析後所得的 Rf 值關係



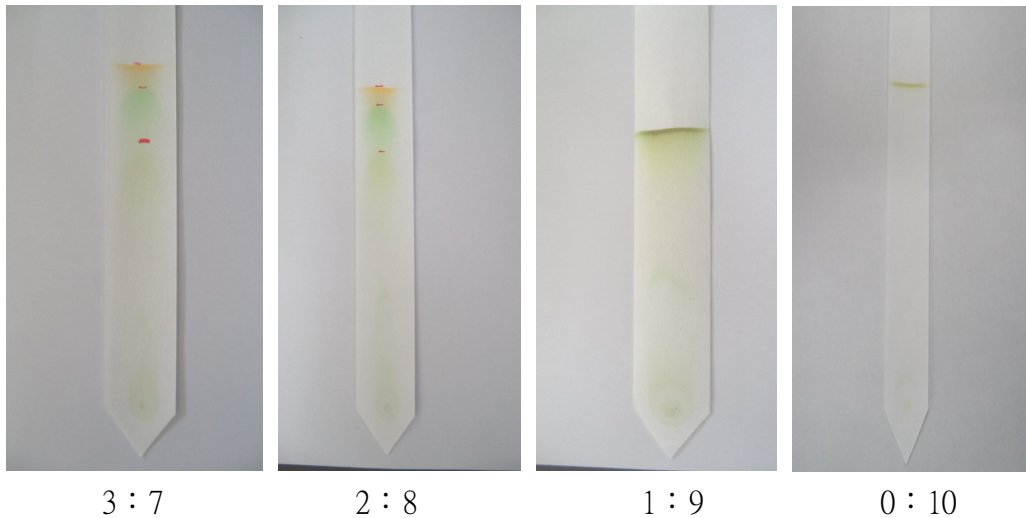


圖 5. 以石油醚與乙醚以不同比例配製展開液經過十五分鐘的色素層析結果。圖下數字為石油醚與乙醚的比

由實驗發現：從 9：1 到 4：6 都可完全分離四種色素，3：7 和 2：8 能分離出三種色素，1：9 和 0：10 則無法分離色素。

(二)將石油醚與 95%乙醇以不同整數比例混和後做為移動相，進行十五分鐘和二十分鐘的濾紙層析實驗，其結果如下：

表四. 將石油醚和 95%乙醇以不同整數比例混和後，進行濾紙層析後，四種色素的 Rf 值

石油醚：95%乙醇	9：1	15min	9：1	20min
胡蘿蔔素		1		1
葉黃素		0.642		0.611
葉綠素 A		0.753		0.659
葉綠素 B		0.543		0.359

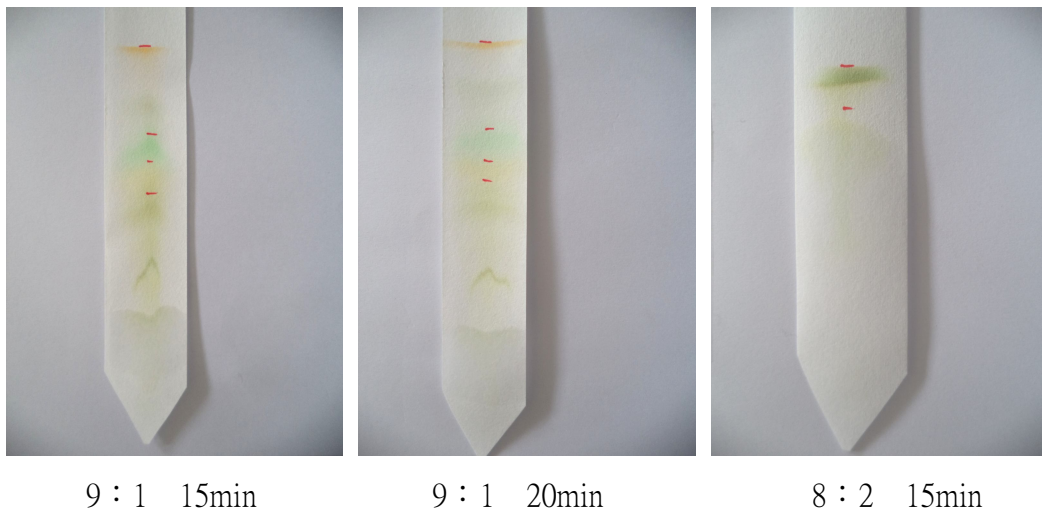


圖 6. 以石油醚與 95%乙醇以 9：1 和 8：2 的比例配製展開液經過的色素層析結果。圖下數字為石油醚與乙醇的比

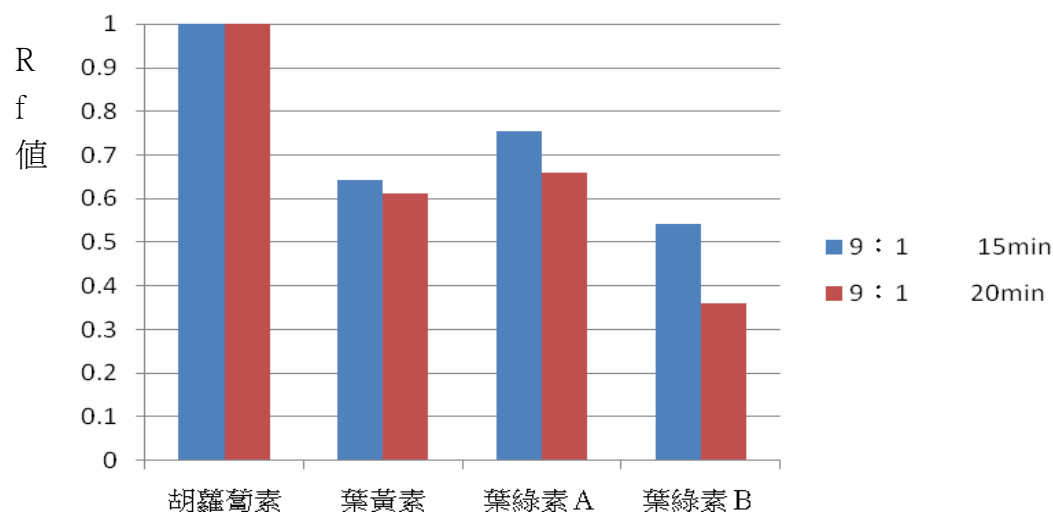


圖 7. 將石油醚和乙醇以不同整數比例混合作為展開液進行十分鐘的濾紙層析後所得的 Rf 值關係

(三) 將石油醚與戊醇以不同整數比例混和後做為移動相，進行十分鐘和十五分鐘的濾紙層析實驗，其結果如下圖：

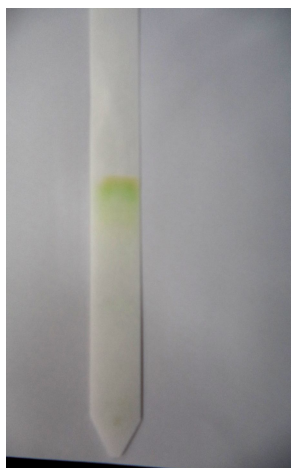


圖 8. 石油醚：戊醇=9：1

由實驗結果可以得到：將石油醚和乙醚混合作為展開液，從 9：1 到 4：6 都可以完全的分離色素，且色素的上升順序為黃色、暗橘色、藍綠色、綠色。而將石油醚和乙醇混合作為展開液，只有 9：1 的狀況可以分離色素，且色素的上升順序為胡蘿蔔素、葉綠素 A、葉黃素、葉綠素 B。至於戊醇只有在石油醚和戊醇 9：1 才會有極不明顯的分離狀況。

四、討論：

(一) 純液在濾紙的上升情形

1. 南一版生物課本中有關色素層析的實驗操作，是在展開液上升至 100ml 量筒高度的 90%時取出濾紙，展開液上升的所需時間超過一個小時，而純液大約 15 分鐘便會趨於穩定，故決定採用 15 分鐘為未來的實驗觀察時間。
2. 乙醚在濾紙的上升速度最快，但 15 分鐘過後即無法觀測乙醚的上升高度，因為其揮發性太強，導致濾紙上的乙醚被揮發而無法觀測。
3. 因乙醚在濾紙的上升速度最快，推測在展開液中乙醚的含量愈高，則展開液上升的速度就愈快。

(二) 不同溶劑所產生的變化

1. 乙醚的毒性較高，必須在通風的環境進行色素層析，否則長時間接觸乙醚會產生頭暈的現象。
2. 在乙醚混和石油醚作為展開液的實驗，發現一條暗橘色的色帶如圖，推測此色帶應該含有胡蘿蔔素和一些色素衍生物。
3. 在乙醇混和石油醚作為展開液的實驗中可以發現色素的並不是呈現尖端的上升情形，而是較為平緩的狀況。
4. 將乙醚與丙酮以不同整數比例相混合與將乙醇和丙酮以不同整數比例相混合，結果都無法分離色素。
5. 戊醇的揮發性較低，因此實驗結束將濾紙取出後，色素有繼續上升的現象。

參、結論：

1. 高中課本建議，石油醚：90%丙酮=9：1的比例能有不錯的色素分離效果，但我們發現，石油醚：90%丙酮=8：2的展開液也有相同成效，但是當比例提升為石油醚：90%丙酮=7：3時，色素即無法順利分開，這些結果顯示，石油醚對色素分離具有較高影響性，其比例必須維持較高，才能產生較佳的分離效果。
2. 丙酮的含量愈高，色素愈往展開液前端集中，不含丙酮的展開液只能將胡蘿蔔素分開，只有在90%丙酮、石油醚兩者的比例適當時，才有最佳色素分離效果。
3. 將石油醚和乙醚以不同整數比例作為展開液，色素的上升速率依序為葉黃素、胡蘿蔔素、葉綠素 A、葉綠素 B，且從 9：1 到 4：6 都能完全分離色素，因此乙醚的分離效果較丙酮佳。
4. 將石油醚和乙醇以不同整數比例作為展開液，色素的上升速率依序為胡蘿蔔素、葉綠素 A、葉黃素、葉綠素 B，但只有 9：1 的狀況能夠分離出四種色素，因此分離效果較丙酮差。
5. 使用石油醚和戊醇作為展開液，發現只有在石油醚與戊醇比例 9：1 的狀況

下，色素會略為分離，且其揮發性太弱，導致實驗結束後將濾紙拿出色素仍會繼續上行。

6. 石油醚在色素層析的實驗中是必須的，沒有使用石油醚作為展開液的有機溶劑之一就不會產生分離效果。
7. 就另外四種不同有機溶劑的分離效果而言，乙醚 > 丙酮 > 乙醇 > 戊醇，推測應該是因為脂溶性乙醚 > 丙酮 > 乙醇，而戊醇的揮發性最低，因此分離效果以乙醚最佳，戊醇最差。
8. 期待未來能找到對於色素的分離效果更佳的有機溶劑。
9. 找出為何醇類的色素上升情形不是呈現尖端的狀況，而是較為平緩的狀況。
10. 希望能將濾紙層析作為近似物種粗分類的差異
11. 期望能將濾紙層析用在分析植物或藻類於：
 - a、不同環境下的適應模式
 - b、同植物成長期間色素體的變化
 - c、逆境期間植物色素的變化

肆、引註資料：

- 一、南一版選修生物(上)
- 二、光合色素的濾紙層析分離。全國第四十七屆中小學科展作品
- 三、王月雲、陳是瑩、童武夫(1998)植物生理學實驗